N° d'enregistrement
au C.N.R.S. : A.O. 8598

THESE DE DOCTORAT D'ETAT
ES-SCIENCES NATURELLES

présentée

A L'UNIVERSITE PARIS VI

par

Monsieur Bernard DUFY

pour obtenir
le grade de Docteur Es-Sciences

Sujet de la Thèse :

ACTIVITE UNITAIRE DES NEURONES DE L'HYPOTHALAMUS CONCERNES PAR LA REGULATION GONADOTROPE

Soutenue le 8 Juin 1973 devant la Commission d'Examen

MM.	C. THIBAULT	**Président**
	P. BUSER	**Examinateurs**
	D. ALBE-FESSARD	
	J.MA. FAURE	

N° d'enregistrement
au C.N.R.S. : A.O. 8598

THESE DE DOCTORAT D'ETAT
ES-SCIENCES NATURELLES

présentée

A L'UNIVERSITE PARIS VI

par

Monsieur Bernard DUFY

pour obtenir
le grade de Docteur Es-Sciences

Sujet de la Thèse :

ACTIVITE UNITAIRE DES NEURONES DE L'HYPOTHALAMUS CONCERNES PAR LA REGULATION GONADOTROPE

Soutenue le 8 Juin 1973 devant la Commission d'Examen

MM.	C. THIBAULT	**Président**
	P. BUSER	**Examinateurs**
	D. ALBE-FESSARD	
	J.MA. FAURE	

UNIV.
LEIDEN
BIBL.

AVANT - PROPOS

Ce travail a été effectué au Laboratoire de Neurophysiologie et Physiopathologie de l'Université de BORDEAUX II, dirigé par le Professeur J.M.A. FAURE auquel j'exprime ma profonde reconnaissance pour la confiance qu'il m'a accordée ; il n'a jamais ménagé ni son temps, ni sa peine ; c'est grâce à sa sollicitude permanente que ce travail a pu être réalisé, qu'il veuille bien trouver ici l'expression de ma profonde gratitude.

Je remercie vivement Monsieur C. THIBAULT, Professeur à l'Université de PARIS VI pour l'intérêt qu'il a porté à mon travail et pour ses conseils qui me furent très précieux. Je suis très heureux qu'il ait accepté de présider le jury de cette thèse.

Je voudrais remercier Monsieur P. BUSER, Professeur à l'Université de PARIS VI d'avoir bien voulu, malgré ses multiples occupations, participer au jugement de ce travail.

Madame D. ALBE-FESSARD, Professeur à l'Université de PARIS VI s'est toujours intéressée à mon travail, elle l'a examiné, critiqué. Je tiens à lui témoigner toute ma reconnaissance.

Je dois à plusieurs années de travail, sous la direction de Monsieur J.D. VINCENT, Professeur à l'Université de BORDEAUX II l'essentiel de ma formation en neurophysiologie. Il a bien voulu consacrer une grande partie de son temps à critiquer la première rédaction de ce travail. Je suis heureux d'avoir l'occasion de lui exprimer mes trés sincères remerciements.

Je dois à Monsieur Cl. BENSCH, Professeur à l'Université de BORDEAUX II d'innombrables suggestions et conseils dont je lui suis trés reconnaissant.

Je tiens à remercier pour leur collaboration compétente et de tous les instants, Monsieur F. RODRIGUEZ, Monsieur G. LABAYLE, Monsieur R. MIGUELEZ pour les dessins et les photos, ainsi que Madame R. BONHOMME et Melle J. BALABEAU pour la qualité du travail histologique, Melle M.H. ARNAULD et Melle A. PRIVAT qui a bien voulu assurer la réalisation typographique du manuscrit.

SOMMAIRE

Introduction 1

Première partie.

Physiologie de l'ovulation chez la Lapine 5

1. Le stimulus coïtal 6

2. Les voies de l'arc réflexe neuro-endocrinien 8

3. La réponse 14

4. Régulation de l'arc neuro-endocrinien.. 16

a) feed-back long des stéroïdes ovariens 17

b) feed-back court des gonadostimulines hypophysaires 21

c) feed-back ultra-court des hormones hypothalamiques 22

d) rôle des monoamines dans les mécanismes de l'ovulation chez le Lapin 23

5. Résumé 27

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41549224_0030

Deuxième partie.

I. Matériel et techniques 29

1. Techniques opératoires 30

2. Microélectrodes 31

3. Description des différents montages électroniques 31

4. Protocole expérimental..... 37

5. Analyse des données 39

II. Données morphologiques 40

1. Organisation générale de l'hypothalamus 41

2. Groupe antérieur 42

3. Groupe médian 43

4. Groupe postérieur 44

Troisième partie.

Analyse comportementale des corrélatifs de l'ovulation 52

1. Stimulation vaginale et niveaux de vigilance 54

2. Hypophysectomie et injection hormonale 58

3. Incidence des modifications de la vigilance sur l'ovulation 60

4. Discussion 61

Quatrième partie.

Etude de l'activité unitaire hypothalamique et de ses variations au cours de la régulation gonadotrope 63

I. Activité unitaire hypothalamique spontanée et niveau de vigilance 64

II. Activité unitaire et ovulation réflexe.. 73

1. Rapprochement sexuel normal 74

2. Stimulation vaginale 77

a) stimulation vaginale efficace.. 77

b) stimulation vaginale inefficace.80

3. Activité neuronale hypothalamique et spécificité du modèle 82

a) stimulations électriques cutanées, sonores et visuelles..... 82

b) stimulation vaginale et mise en jeu de l'axe hypothalamo-post-hypophysaire 83

4. Stimulations vaginales effectuées chez des animaux hypophysectomisés et ovariectomisés 85

5. Résumé 88

III. Rétro-action d'origine hypophysaire et activité unitaire hypothalamique.... 89

1. Effet des injections systémiques de LH 90

2. Effet des injections systémiques de FSH 91

3. Effet des injections conjuguées de LH et FSH ..... 9?

4. Résumé 95

IV. Rétro-action stéroïdiennes et activité unitaire hypothalamique 98

1. Problèmes techniques posés par l'injection des stéroïdes 99

a) le solvant 99

b) progestérone et pression artérielle 100

2. Effet des injections systémiques d'oestrogènes 102

3. Effet des injections systémiques de progestagènes : progestérone et 20α - OH 103

4. Données autoradiographiques 107

a) protocole expérimental 113

b) fixation des oestrogènes 114

c) fixation de la progestérone....115

5. Résumé 117

IV. Intervention mono-aminergique 118

1. Influence d'injections intraventriculaires de monoamines sur la libération des gonadotrophines 119

2. Effet des injections intraventriculaires de catécholamines sur l'activité unitaire de l'hypothalamus 120

3. Résumé 123

Discussion des résultats 127

1. Mécanismes généraux 128

2. Régulation monoaminergique de la réponse coïtale 131

3. Essai de localisation des neurones synthétisant les releasing-factors.... 134

4. Récepteurs hypothalamiques hormonaux... 138

5. Feed-back des hormones hypophysaires... 145

6. Feed-back des stéroïdes ovariens 146

Conclusion 153

Bibliographie 155

INTRODUCTION

Depuis 25 ans, à partir des travaux de GREEN et HARRIS (1947) et de BENOIT et ASSENMACHER (1951), les problèmes posés par les relations hypothalamo-hypophysaires ont donné lieu à de trés nombreuses études ; la découverte dans des extraits d'éminence médiane, de substances pouvant provoquer la libération des hormones gonadotropes, (CAMPBELL et al.,1960),(COURRIER et al., 1961),(IGARASHI et Mc CANN, 1964), (KUROSHIMA et al., 1965), la mise en évidence de terminaisons nerveuses contenant des granules de neuro-sécrétion, en relation directe avec des capillaires du système porte, chez le Cobaye (BARRY et COTTE,1961), (MAZZUCA, 1965) et chez le Lapin (DUFFY et MENEFEE, 1965) permettent d'attribuer à des hormones hypothalamiques ou "releasing-factors" (RF) une certaine responsabilité dans la commande des sécrétions de l'hypophyse antérieure.

Dès lors, il devenait nécessaire de préciser d'une part, la localisation anatomique, d'autre part l'organisation fonctionnelle des différents mécanismes nerveux et neurosécrétoires impliqués dans cette régulation.

Au nombre des principales techniques permettant une telle approche, nous citerons les destructions, stimulations, implantations in situ et enfin l'étude des modifications électrophysiologiques entraînées par les diverses libérations hormonales.

Dans ce travail, l'étude de la régulation hypothalamique de la fonction gonadotrope a été abordée sous un angle fonctionnel chez un animal à ovulation réflexe, le Lapin. Cette particularité physiologique permet, en effet, de dater avec précision, à partir d'un stimulus coïtal, la séquence des phénomènes complexes aboutissant quelques heures plus tard, à la rupture des follicules ovariens. Afin de ne pas perturber les phénomènes par un anesthésique, cette étude a été réalisée chez l'animal non anesthésié, libre de son comportement. Cette méthodologie devait, cependant, tenir compte des variations importantes de la vigilance mise en évidence par FAURE (1956) et SAWYER et KAWAKAMI (1959) à la suite de manipulations expérimentales retentissant sur l'hormonémie ; ces modifications de la vigilance et leur retentissement

possible sur l'activité électrique unitaire des neurones hypothalamiques pouvaient fausser l'interprétation des résultats ; il était donc nécessaire de s'assurer de l'importance relative d'un tel phénomène avant de conclure à la spécificité des effets constatés.

Il est actuellement bien établi que le système nerveux et le système endocrinien interviennent ensemble pour assurer le contrôle des paramètres physiologiques nécessaires à l'accomplissement des fonctions de la reproduction, et que ce contrôle s'effectue aux différents étages de l'axe hypothalamo-hypophyso-gonadique. L'interaction, la complexité et la multiplicité des différents paramètres rendent difficile toute tentative de chématisation ; afin de pouvoir discerner dans les faits expérimentaux constatés le rôle respectif des afférences nerveuses directes et des rétro-actions hormonales, cette étude a été réalisée en trois temps ; elle a d'abord comporté la recherche des neurones hypothalamiques dont l'activité est modifiée par le stimulus coïtal, puis celle des modifications apportées sur l'activité électrique unitaire des neurones des régions précédentes par l'injection systémique d'hormones hypophysaires chez l'animal hypophysectomisé et ovariectomisé, celle des effets induits par l'injection systémique d'hormones gonadiques chez l'animal ovariectomisé.

Un étage supplémentaire de cette régulation, situé au niveau de la libération des releasing-factors, fait intervenir des mécanismes mono-aminergiques, (MARKEE et al., 1948), (SAWYER, 1952), BENSCH et L'HERMITE (1969) chez le Lapin et FUXE et HOKFELT (1967), (KELLER et LICHTENSTEIGER, 1971), (KORDON et GLOWINSKI, 1971) chez le Rat ; mais, si certains auteurs (Mc CANN et al. (1968), ont pu attribuer aux catécholamines un rôle direct dans la libération des gonadotrophines chez le Rat, une telle étude n'a pas été réalisée chez le Lapin et s'avère nécessaire avant d'envisager leur rôle éventuel dans les modifications de l'activité unitaire précédemment observées.

PREMIERE PARTIE

PHYSIOLOGIE DE L'OVULATION CHEZ LA LAPINE

1. Le stimulus coïtal
2. Les voies de l'arc réflexe neuro-endocrinien
3. La réponse réflexe
4. Régulation de l'axe neuro-endocrinien
   - rétro-action longue des stéroïdes ovariens
   - rétro-action courte des gonadostimulines
   - rétro-action ultra-courte des hormones hypothalamiques
   - rôle des monoamines
5. Résumé

Une ovulation réflexe à la suite d'un rapprochement sexuel se produit de façon plus ou moins exceptionnelle dans de nombreuses espèces (ADELL, 1946), (ZARROW et CLARK,1968), (J.D. GREEN, 1969) ; elle est par contre la règle chez la Lapine où l'ovulation apparaît comme une réponse réflexe à un stimulus défini. Cette particularité physiologique a dicté notre choix du Lapin comme animal d'expérience, car il est alors possible de connaître le moment de la mise en jeu des mécanismes neuro-endocriniens.

Nous rappelons les composants de ce que l'on peut appeler un arc réflexe neuro-endocrinien.

Le stimulus coïtal.

L'efficacité du stimulus n'est pas absolu, elle est soumise aux variations des milieux extérieur et intérieur.

Des travaux déjà anciens ont montré, chez le Lapin, des variations saisonnières dans l'acceptation du mâle par la femelle et dans la fréquence de l'ovulation qui en résulte. FRIEDMAN (1938) rapporte qu'un pourcentage important de femelles accepte le rapprochement sexuel au printemps plus qu'en toute autre saison. ZONDEK et SKLOW (1941) trouvent que la stimulation électrique est plus efficace chez le Lapin en oestrus de janvier à juin. BRADBURY (1944) mentionne une variation saisonnière dans la sensibilité de la Lapine en oestrus aux gonadotrophines pituitaires avec un maximum de sensibilité au printemps et FRIEDMAN et FRIEDMAN (1939) rapportent des modifications saisonnières du contenu hypophysaire en gonadotrophines.

FARREL et al. (1968) mentionnent une variation saisonnière dans le taux d'ovulation après coït ; le coït étant accepté, le taux d'ovulation varie entre 100 % au printemps et 20 % en moyenne à la fin de l'été et en automne. Ces modifications du taux d'ovulation semblent liées à la durée de l'éclairement journalier ou plutôt à ses variations.

Afin d'obtenir un matériel expérimental stable de nombreux auteurs préparent leurs animaux aux oestrogènes avant toute expérimentation (SAWYER et MARKEE, 1959) ; mais SAWYER (1959) ayant montré que les oestrogènes pouvaient induire des ovulations spontanées dont le taux n'était d'ailleurs pas fixe, mais lui-même sujet à des variations saisonnières, nous avons choisi l'éclairement comme facteur favorisant l'oestrus. Il a en effet été démontré qu'un nycthémère constant produit une augmentation de la taille des ovaires et favorise l'oestrus (FAURE et al., 1971), (WURTMAN, 1967), (BENSCH et al., 1969) ; nos animaux d'expérience sont donc logés en cages climatisées à 20 ° C sous un régime d'éclairement journalier de 14 h à 200 lux et de 10 h d'obscurité.

D'autre part, afin d'éviter les mises en jeu hypothalamiques simultanées multiples, par excitation d'afférences sensorielles olfactives (PARKS and BRUCE, 1961) ou autres (J.D. GREEN), nous n'avons conservé dans l'ensemble constituant le stimulus coïtal naturel que la stimulation vaginale (SV) proprement dite, en remplaçant l'action du mâle par une stimulation artificielle du vagin.

Les voies de l'arc réflexe neuro-endocrinien.

Les voies ascendantes des afférences neuro-endocriniennes de la voie gonadotrope sont mal connues.

Dans la portion médullaire, les fibres du tractus spinothalamique, qui rejoignent les groupes cellulaires de la formation réticulée pontique et de la substance grise du mésencéphale, pourraient jouer un rôle (MEHLER et al., 1960); il est important de noter que la libération d'ocytocine à la suite d'une stimulation vaginale nécessite l'intégrité de structures identiques (RICHARD et al., 1970), (RICHARD, 1972).

A partir du bulbe, un maillon possible de la chaîne est fourni par l'existence d'un système ascendant de fibres entre la région du noyau du faisceau solitaire et le noyau tegmental dorsal de GUDDEN (MOREST, 1961).

Dans le mésencéphale, les travaux sont plus nombreux ; les expériences de stimulation, destruction, enregistrement, réalisées chez le Lapin, le Chat et le Rat,et la Brebis (RICHARD, 1970, 1972), montrent une participation effective de la formation réticulée et de la substance grise centrale.

SAWYER et al., (1955, 1960) suggèrent que les influx afférents en provenance de la sphère génitale traversent le système réticulaire multi-synaptique extra-lemniscal. Travaillant chez le Rat, CRITCHLOW (1958) bloque l'ovulation par des lésions massives de la région rostrale et ventrale du mésencéphale ; bien que la formation réticulée ne semble pas nécessaire à l'ovulation chez cette espèce, elle pourrait jouer un rôle critique dans la libération des gonadotrophines après le coït.

ALCARAZ et al. (1969), BEYER et al., (1971) observent des modifications de la réponse des neurones mésencéphaliques à la stimulation vaginale en rapport avec les conditions endocriniennes de l'animal.

Des lésions pratiquées dans la formation réticulée entraînent des images de dégénérescence dans l'aire hypothalamique latérale au niveau des fibres du faisceau médian du télencéphale et des lésions de la substance grise centrale entraînent des images de dégénérescence dans presque tout l'hypothalamus, SZENTAGOTHAI et al. (1968) ; des fragments de dégénérescence atteignent le noyau supra-mamillaire, la partie dorsale du noyau prémamillaire, l'aire hypothalamique latérale, les noyaux dorso - et ventro-médians, et le noyau supra-chiasmatique.

Deux grands systèmes de fibres participent aux projections hypothalamiques du mésencéphale qui intéressent le réflexe neuroendocrinien, ce sont :

(1) le pédoncule mamillaire dont les principales origines sont les noyaux tegmental ventral et tegmental dorsal de GUDDEN, un certain nombre de fibres rejoignent le corps mamillaire, d'autres continuent dans le faisceau médian du télencéphale et certaines atteignent le noyau de la bandelette diagonale de BROCA (MOREST, 1961), (NAUTA et HAYMAKER, 1969).

(2) la partie ascendante du faisceau longitudinal dorsal de SCHUTZ dont les origines sont assez mal déterminées ; il semblerait que certaines fibres proviennent du noyau tegmental dorsal de GUDDEN, d'autres auraient leurs origines

dans des parties plus rostrales de la substance grise centrale.

La destruction hypothalamique de ce faisceau semble principalement se situer au niveau de l'hypothalamus postérieur, des noyaux prémamillaires et supramamillaires, mais aussi au niveau des aires hypothalamiques dorsale et latérale (NAUTA et HAYMAKER, 1969).

A côté de ces deux grands systèmes directs, il est vraisemblable que des informations, venant de la formation réticulée mésencéphalique, affectent les mécanismes hypothalamiques par l'intermédiaire de structures thalamiques. De nombreux auteurs ont également montré que les structures limbiques et télencéphaliques participaient à la modulation de l'activité des voies réflexes directes qui commandent les centres hypothalamiques (FAURE, 1968), (FAURE, 1957),(VELASCO et TALEISNIK, 1969),(MARTINI et al., 1967), (SAWYER, 1967).

Les centres hypothalamiques concernés par l'arc réflexe neuroendocrinien ont été étudiés dès 1937 par HARRIS. Confirmant les hypothèses de FEE and PARKS (1929), cet auteur montre que, chez la Lapine, des stimulations électriques de l'hypothalamus et de l'hypophyse sont capables de provoquer une ovulation ; les résultats positifs qu'ils obtiennent à partir de l'hypophyse sont attribués par MARKEE et al. (1946) à une diffusion des forts courants de stimulation employés ; travaillant sur le même animal et utilisant des paramètres de stimulation moins élevés, SAUL et SAWYER (1957)

localisent alors une aire spécialement sensible à la stimulation : c'est la partie tubéro-basale postérieure de l'éminence médiane. Ces résultats ont été confirmés par HAYWARD et al. (1964) et KORDON (1967).

Les expériences de stimulation sont insuffisantes pour localiser à la seule région prémamillaire l'ensemble des mécanismes hypothalamiques, qui commandent la sécrétion des hormones gonadostimulantes. Les auteurs distinguent, en effet, plusieurs mécanismes différents (KORDON, 1968), (KORDON et JUTISZ, 1968).

(1) Un mécanisme purement nerveux intégrateur de l'information.

(2) Un mécanisme effecteur neurosécréteur qui élabore les ordres hypothalamiques sous forme de "releasing-factor" (RF).

(3) Un mécanisme neuro-vasculaire qui contrôle la libération de ces releasing-factors dans le système post-hypophysaire.

On ne connaît pas actuellement la localisation de ces différents étages ; on ne sait pas quels sont les neurones concernés par ces mécanismes, où sont élaborés les RF, ni quels sont les aires qui contrôlent leur élaboration.

Au niveau hypophysaire. - Nous ne nous intéresserons qu'à l'hypophyse antérieure ou pars distalis et, parmi toutes les hormones secrétées, qu'aux deux hormones

antéhypophysaires gonadotropes LH et FSH (*). Nous ne discuterons pas non plus la pluralité des facteurs hypothalamiques FRF et LRF, nous admettrons simplement la présence dans des extraits hypothalamiques d'une activité LRF (Mc CANN et al., 1960), (CAMPBELL et al., 1961, 1964), (COURRIER et al., 1961) et d'une activité stimulant la sécrétion de la FSH (FRF),(IGARUSHI et Mc CANN, 1964), (MITTLER et MEITES, 1964).

L'étude en microscopie optique et électronique des cellules hypophysaires, chez de nombreuses espèces animales, et en particulier chez celles qui présentant une activité sexuelle périodique, a permis de conclure à l'existence de deux catégories distinctes de cellules gonadotropes, les unes secrétent la LH et les autres sécrétant la FSH (FARQUHAR et RINEHART, 1954),(HERLANT ,1963),(RENEELS, 1965), (KUROSUMI et OOTA, 1968). Cependant, chez certaines espèces, comme le Lapin, les caractéristiques morphologiques de différentiations ne permettent pas de conclure à l'existence de deux types distincts de cellules gonadotropes ; les altérations physiologiques des conditions expérimentales d'observations comme le coït ou la castration ne sont d'aucun secours, car les deux types cellulaires

---

(*) Note : le coït peut entraîner la libération d'hormones post-hypophysaires (REYNOLDS, 1929) et d'hormones antéhypophysaires autres que les gonadotrophines (J.D. GREEN, 1969).

réagissent également (SALAZAR, 1963), (YOUNG et al.,1965). NAKANE (1970) utilisant des techniques immuno-histochimiques, qui permettent de mettre en évidence la LH et la FSH, contenues dans les cellules, émet quelques doutes sur la validité du concept "une hormone par type cellulaire" ; il montre en effet que dans de nombreux cas, la LH et la FSH sont présentes dans une même cellule, la concentration relative de LH et FSH variant d'une cellule à l'autre.

L'effet principal des RF est une stimulation de l'excrétion des gonadotrophines stockées dans le tissu hypophysaire (JUTISZ et al., 1967) ; l'injection du RF entraîne dans les 5 à 10 minutes une déplétion du contenu hypophysaire de l'hormone ; la libération supplante alors la synthèse ce qui entraîne une diminution du stock pituitaire (Mc CANN et al., 1968). Mais il n'est guère douteux que l'hormone hypothalamique puisse influencer la synthèse de l'hormone hypophysaire (Mc CANN, 1971) ; si pour certains auteurs le "releasing-factor" a un effet direct sur la synthèse, pour d'autres, celle-ci serait seulement secondaire à l'excrétion elle-même (JUTISZ, 1969), (JUTISZ et al., 1970), (GESCHWIND, 1969). Il est d'ailleurs possible que les mécanismes de libération et de synthèse des deux hormones LH et FSH soient différents (JUTISZ et al., 1970).

La séquence temporelle des mécanismes de libération des granules de sécrétion a été étudiée sur les cellules hypophysaires du Rat par SHINO et al. (1972). Après injection unique de LH-RF ces auteurs observent une exocytose des granules dès la 2ème minute après l'injection et

un maximum vers la 15ème minute. Ces résultats coïncident avec l'augmentation du taux plasmatique de LH.

Chez la Lapine, après coït, le taux plasmatique de LH augmente assez rapidement et atteint un maximum aux environs de la 90ème minute. (DUFY-BARBE et al., 1972), fig. 1, (SCARAMNUZI et al., 1972). Le taux plasmatique de FSH augmente légèrement, mais cette augmentation n'est pas significative (DUFY-BARBE et al., 1972), fig. 2.

3) La réponse.

L'ovulation se produit dix heures et demie après l'accouplement. Pendant les deux heures précédant sa rupture le follicule augmente rapidement de taille, puis se rompt en son centre et laisse échapper l'ovule et le liquide folliculaire. Bien que ce phénomène soit la manifestation la plus visible de la réponse au stimulus coïtal, celle-ci se compose d'éléments plus précoces.

L'extrême sensibilité du tissu interstitiel ovarien joue un rôle essentiel dans les processus ovulatoires chez cette espèce. L'augmentation du taux plasmatique de LH consécutive au coït entraîne la mobilisation du cholestérol et une synthèse rapide de 20 - hydroxy-pregnen-4-en-3-or (20 - OH). Celle-ci libérée dans la circulation générale exerce, en synergie avec les oestrogènes, un feed-back positif sur la libération de LH, (HILLIARD et al., 1961, 1967).

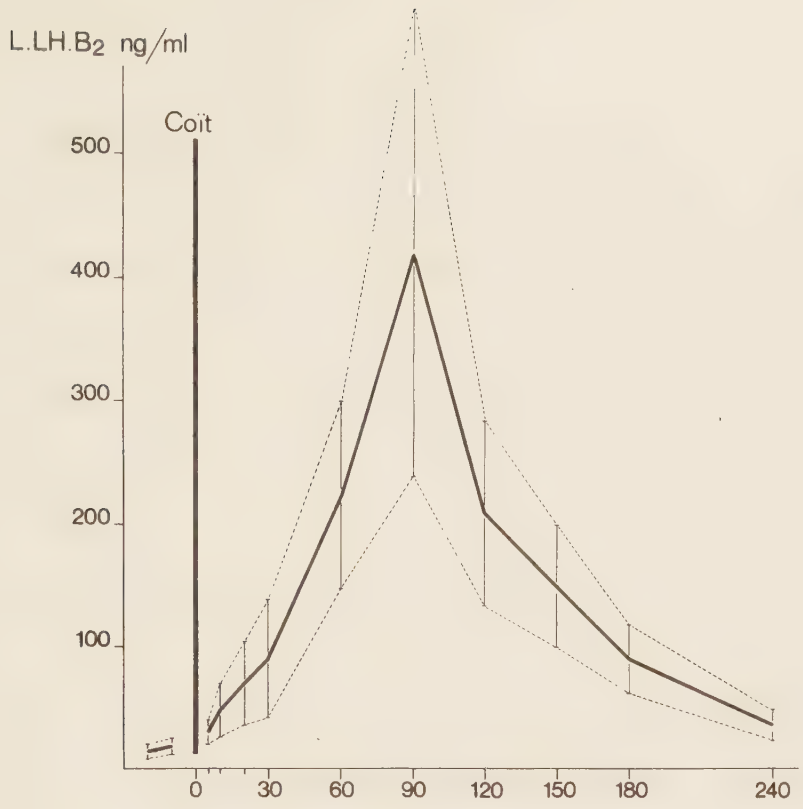


Figure 1.

Augmentation du taux plasmatique de LH à la suite du coït chez la Lapine (DUFY-BARBE et al., 1972) - Etude réalisée chez 7 animaux.

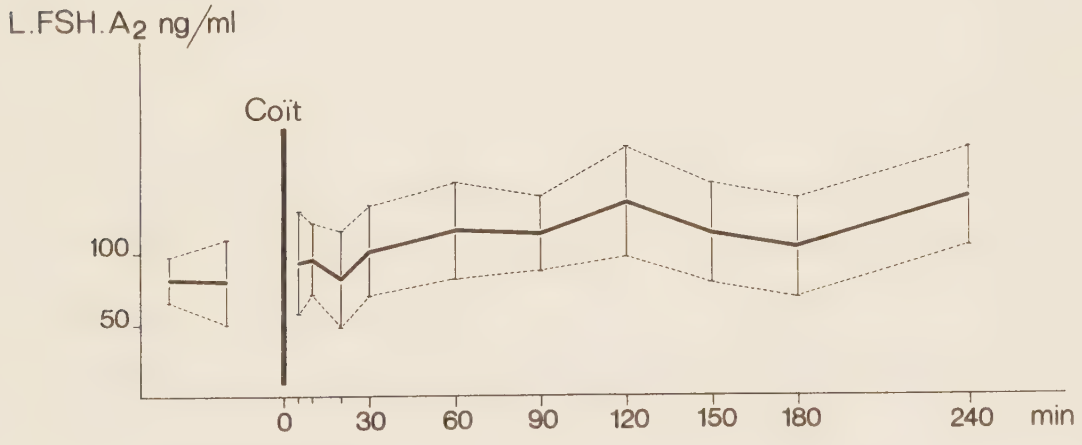


Figure 2.

Modification du taux plasmatique de FSH à la suite du coït chez la Lapine (DUFY-BARBE et al., 1972) - Etude réalisée chez 6 animaux.

En l'absence de 20 α - OH la libération de LH est insuffisante pour mener à son terme le processus d'ovulation.

Quelques jours plus tard que le follicule lutéinisé commence à sécréter de la progestérone proprement dite, qui inhibe l'ovulation durant la gestation et la pseudo-gestation (SPIES et al., 1969).

4) Régulation de l'arc neuro-endocrinien.

La sécrétion des hormones hypophysaires est réglée par différents mécanismes agissant à divers niveaux.

Ces mécanismes dépendent, en partie d'informations extéroceptives d'origine extra-hypothalamiques, déjà citées à propos de l'efficacité du stimulus, et en partie des modifications de la concentration dans le milieu intérieur des différentes hormones ovariennes, hypophysaires et hypothalamiques.

Une régulation supplémentaire est apportée par les monoamines (Adrénaline, Noradrénaline, Dopamine, Sérotonine), qui sont susceptibles d'agir sur les afférences d'origines extra-hypothalamiques, directement ou indirectement sur les neurones hypothalamiques élaborant les "releasing factors" ou bien au niveau du passage des RF dans le système porte-hypophysaire.

Le mécanisme par lequel les hormones, hypophysaires ou gonadiques agissent sur le cerveau pour modifier la libération des hormones hypophysaires relève de schémas généraux

connus sous le terme de "feed-back" (*). Il y a lieu, toutefois de remarquer que ce terme recouvre ici deux mécanismes différents selon qu'il s'applique à l'action des hormones hypophysaires ou à celle des hormones gonadiques.

Les hormones hypophysaires modulent, en effet, leur propre taux de sécrétion, ce qui répond à la définition exacte d'un feed-back et sera désigné sous le nom de feed-back court, les stéroïdes agissent au niveau central pour modifier le taux circulant des hormones hypophysaires, le terme de feed-back est pris dans ce cas, dans un sens beaucoup plus général, (on peut alors parler des feed-back de 2ème ordre ou feed-back long).

a)Feed-back long des stéroïdes ovariens.

- Feed-back négatif.

Il a été clairement démontré chez le Rat mâle et femelle que la suppression des gonades entraînait une augmentation de la synthèse et de la libération des gonadostimulines LH et FSH (PAESI et JONGH, 1954), (PAESI et al.1955), (GANS, 1959), (RAMIREZ et Mc CANN, 1963), (Mc CANN et RAMIREZ,

---

(*) Note : Nous préfererons utiliser le terme anglais de "feed-back" plutôt que sa traduction française. Cet anglicisme se justifie par son emploi courant.

1964), chez le Lapin (KANEMATSU et SAWYER, 1964,1965), et que d'autre part, l'injection systémique de stéroïdes et notamment d'oestrogènes entraînait la déplétion du contenu hypophysaire et plasmatique des deux gonado-stimulines.

La progestérone peut également avoir un effet inhibiteur sur la libération de LH, mais son rôle sur celle de FSH est plus discutable ; elle empêche la réponse ovulatoire à une stimulation électrique de l'hypothalamus (SPIES et al., 1969), la progestérone bloque la réponse ovulatoire à une perfusion intra-pituitaire de LRF (HILLIARD, 1971) et l'administration de progestérone entraîne une réduction de l'hypertrophie ovarienne compensatrice (ce phénomène serait dû à une hypersécrétion de FSH); mais cette interprétation est contestée par Mc LAREN (1966) et de nombreux auteurs pensent qu'elle n'a pas (ou peu) d'effet sur la libération de FSH.

Toutefois, la progestérone semble peu active et Mc CANN (1962) suggère que chez le Rat, elle agit seulement en présence d'oestrogènes.

L'hypothèse de la régulation des gonado-stimulines hypophysaires par feed-back négatif des stéroïdes ovariens est insuffisante pour rendre compte de la réalité ; à côté des feed-back négatifs il faut faire une place importante aux feed-back positifs où la sécrétion des stéroïdes précède ou accompagne la sécrétion des gonado-stimulines.

-Feed-back positif.

Si des traitements prolongés à forte dose sont inhibiteurs, des traitements de courte durée et à faible dose de stéroïdes (oestrogènes et progestérone) peuvent faciliter la libération de l'hormone ovulante LH.

KLEIN (1947) montre que la Lapine gestante ou pseudo-gestante répond à un traitement aux oestrogènes par une acceptation du mâle et une ovulation, phénomène qui est peu commun chez une Lapine ayant un corps jaune actif.

Nous avons déjà rappelé que SAWYER et MARKEE (1959) observent une facilitation de l'ovulation après un traitement de deux jours aux oestrogènes et que ce traitement prolongé peut même conduire à une ovulation spontanée (SAWYER, 1959).

SAWYER et EVERETT (1959) montrent que la progestérone administrée 1 à 4 h avant la stimulation vaginale facilite la réponse ovulatoire, passé ce temps elle a l'effet inhibiteur précédemment décrit. Chez la Lapine FORBES (1953) trouve des quantités dosables de progestagènes dans le sang une heure et demie après le coït et une heure après l'injection de gonadostimulines. HILLIARD et al. (1961, 1967) rapportent la présence de 20 α - OH dans le sang veineux ovarien quelques minutes après le coït ou l'injection de gonadostimulines.

Actuellement, la sécrétion préovulatoire des progestagènes est évidente chez le Lapin et a également été démontrée chez le Rat (PLACSEK et al., 1971).

Le problème de l'identification des structures nerveuses intéressées restant entier, de nombreux auteurs ont essayé de localiser des éléments sensibles aux stéroïdes par implantation stéréotaxique de micro-quantités d'hormones directement dans le cerveau et l'hypophyse.

Des implants de benzoate d'oestradiol dans la partie postérieure de l'éminence médiane de la Lapine provoquent une atrophie des gonades (DAVIDSON et SAWYER, 1961). Ce résultat a été retrouvé par FAURE et al. (1965) qui, en outre, observent l'association d'une modification marquée du comportement dans le sens d'un sommeil lent accompagné d'un sommeil paradoxal prédominant avec un comportement olfacto-sexuel (OBAGS), plus discret et a été commenté par FAURE (1968). Les implants effectués directement dans l'hypophyse sont inefficaces. Sur le même animal, KANEMATSU et SAWYER (1964) observent que des implants d'oestrogènes dans la partie postérieure de l'éminence médiane empêchent l'augmentation caractéristique du contenu hypophysaire et du taux plasmatique de LH consécutive à la castration. Les mêmes auteurs (1965) montrent également que des implants de norethindrone dans l'hypothalamus basal bloquent l'ovulation en réponse au coït, chez la Lapine, sans induire une atrophie des ovaires et sans modifier le taux de base de LH, mais ils ne peuvent pas reproduire ce résultat avec de la progestérone peut-être parce que les doses employées étaient trop faibles (DAVIDSON, 1969).

Les difficultés d'interprétation du rôle physiologique des différents feed-back stéroïdiens proviennent,

pour une partie, de l'existence de plusieurs stéroïdes et de leur influence simultanée - chez le Lapin, KAWAKAMI et SAWYER (1959, 1967) - chez le Rat, RAMIREZ et Mc CANN (1963); il faut également remarquer que la sécrétion des gonadostimulines comprend la synthèse, le stockage, et la libération de l'hormone et que les feed-back hormonaux peuvent agir différemment sur ces trois composantes.

Feed-back court des gonado-stimulines hypophysaires.

L'existence de feed-back courts exercés chez le Lapin par les gonadostimulines hypophysaires a été suggérée pour la première fois par SAWYER et KAWAKAMI (1959) qui trouvent après injection systémique de LH une post-réaction E.E.G. semblable à celle observée après le coït ; mais à part quelques expériences électrophysiologiques dont nous reparlerons, l'expérimentation de ces feed-back a principalement porté sur le Rat. Nous en rappellerons brièvement quelques-unes et renvoyons aux articles trés complets réalisés sur ce sujet par MOTTA et al. (1970), MARTINI (1969), EVERETT (1969).

DAVID et al. (1966), CORBIN et COHEN (1966), CORBIN, (1966) montrent que l'implantation de petites quantités de LH dans l'éminence médiane du Rat castré ou normal entraîne une diminution du taux de la LH plasmatique et pituitaire. Seuls les implants localisés dans l'éminence médiane sont efficaces ; la sécrétion de FSH n'est apparemment pas affectée par des implants de LH.

La participation de l'hypothalamus au feed-back de la LH est également montrée par des expériences d'hypophysectomie où, le signal inhibiteur fourni par la LH endogène ayant été supprimé, on observe une hypersécrétion de LH-RF, qui devient détectable dans le plasma des animaux hypophysectomisés (NALLAR et Mc CANN, 1965). La LH exogène réduit le taux circulant de LH-RF (Mc CANN et al., 1968).

CORBIN et STORY (1967), CORBIN et al. (1970) montrent que des implants de FSH, disposés dans l'éminence médiane du Rat, peuvent significativement diminuer le contenu hypophysaire de FSH ; ils démontrent également la présence de FSH-RF dans le plasma de Rat femelle hypophysectomisée, ce qui apporte une preuve supplémentaire à la thèse du contrôle de FSH sur sa propre sécrétion par l'intermédiaire de l'hypothalamus.

A notre connaissance de telles expériences n'ont jamais été réalisées chez le Lapin.

c)Feed-back ultra-court des hormones hypothalamiques.

L'existence de feed-back ultra-court a également été mise en évidence (HYYPA, 1971) ; chez le Rat hypophysectomisé et castré, le taux plasmatique de FRF augmente jusqu'à devenir décelable. Un traitement d'extraits d'éminence médiane contenant du FRF entraîne une diminution significative du taux plasmatique de FRF, le FRF agit ainsi par feed-back négatif sur sa propre sécrétion.

d) Rôle des monoamines dans les mécanismes de l'ovulation chez le Lapin.

L'influence des monoamines sur la régulation de l'Hypophyse a été soupçonnée bien avant que les méthodes modernes ne permettent de déceler l'innervation monoaminergique complexe du noyau arqué et de l'éminence médiane. Mais, si l'on s'accorde à en reconnaître l'importance, les avis diffèrent profondèment en ce qui concerne leurs modalités d'intervention dans le contrôle de la fonction hypophysaire. Deux approches sensiblement différentes ont été utilisées :

- Une approche pharmacologique, la première en date (EVERETT et al., 1949), (MARKEE et al., 1948), onsiste à modifier le métabolisme des amines et étudier les modifications neuro-endocriniennes susceptibles d'en découler.

- Une approche histochimique, utilisant la technique de FALCK et al. (1962), essaie de localiser et de mettre en évidence des modifications du métabolisme des monoamines au cours de phénomènes endocriniens.

Approche pharmacologique.

Les premières études du rôle des monoamines dans le mécanisme de l'ovulation ont été réalisées chez le Lapin, par MARKEE et al. (1948), SAWYER et al. (1949), EVERETT et al. (1949), SAWYER (1952) ; ces auteurs ont montré que des

injections d'épinéphrine (100/ug) ou de norepinéphrine dans le III° ventricule ou dans l'hypophyse étaient susceptibles de provoquer une ovulation chez des Lapines en oestrus préparées aux oestrogènes. DONOVAN et HARRIS (1956) en utilisant des injections localisées ont écarté le rôle possible de l'hypophyse ; ces auteurs ont d'autre part jeté le doute sur la spécificité des réponses gonadiques obtenues après injection intraventriculaire de substances adrenergiques et ont attribué les réponses positives obtenues à des stimulations physiques (température, pression, etc...) des tractus nerveux. Récemment, CURRIE et al., (1969) ont bloqué l'ovulation normalement induite par le coït au moyen d'injections systémiques d'épinéphrine (300/ug/Kg).

Dans des expériences semblables, effectuées sur le Rat, SCHNEIDER et Mc CANN (1970) ont montré que la dopamine était susceptible d'augmenter la libération de LRF in vitro et d'élever le taux plasmatique de LH in vivo ; KAMBERI et al. (1970) ont également obtenu une augmentation de FRF dans le sang porte hypophysaire après injection intraventriculaire de dopamine. La norepinéphrine et l'épinéphrine seraient à cet égard, moins efficaces que la dopamine. Par contre, RUBINSTEIN et SAWYER (1970) obtiennent 50 % d'ovulation chez des Rats bloqués au pentobarbital après injection intraventriculaire d'épinéphrine, dans cette expérience la dopamine s'avère moins efficace.

Approche histochimique.

Utilisant la technique de FALCK, chez la Lapine, BENSCH et L'HERMITE (1969) ont observé une atténuation importante de la fluorescence verte catécholaminergique dans l'hypothalamus ventro-médian et dans le noyau arqué entre la 15è et la 30è minute après le coït.

Travaillant chez le Rat, KELLER et LICHTENSTEIGER (1971), LICHTENSTEIGER (1971) ont constaté une augmentation de la fluorescence dopaminergique de l'éminence médiane et une augmentation simultanée du taux sérique de LH au cours d'expériences de stimulation de l'aire préoptique ; alors que FUXE et al. (1967, 1969, 1972) interprètent les résultats qu'ils obtiennent en donnant aux neurones dopaminergiques de l'E.M.* un rôle inhibiteur sur la libération du LRF.

Bien que ces divergences de vue sur le rôle des monoamines soient troublantes elles n'en confirment pas moins l'importance de ces amines dans la régulation gonadotrope, et ne sont peut-être dues qu'à la diversité des techniques employées, chaque technique n'étant à même de dévoiler qu'une partie du processus.

Nos connaissances sur la nature, la multiplicité et la spécificité des récepteurs aminergiques sont encore trés fragmentaires. Nous ne savons pas quelles sont leur modalité d'intervention dans les feed-back négatifs et positifs ; SCHNEIDER et Mc CANN (1970) suggèrent que

(*) Eminence Médiane.

les CA* interviennent dans la transmission du feed-back négatif des oestrogènes, KALRA et al. (1972), qu'elles sont également partie prenante dans le feed-back positif de la progestérone ; on comprend alors qu'une inondation pharmacologique massive de l'hypothalamus par une caté - cholamine ou un inhibiteur de celle-ci puisse avoir un effet peu physiologique. Il est possible, également, qu'elles n'agissent pas uniformément sur toutes les structures neuro-endocriniennes ; UEMURA et KOBAYASHI (1971) en pratiquant des implants de DA* dans la partie postérieure de l'éminence médiane ont dissocié l'effet de ces implants sur la libération tonique de LH et sur la décharge phasique.

Le seul point que nous retiendrons pour le moment, et sur lequel les auteurs semblent s'accorder, est la précision du moment d'intervention des mécanismes mono-aminergiques. CURRIE et al. (1969) et nous-mêmes avons montré que la sérotonine était capable de bloquer l'ovulation provoquée chez la Lapine uniquement si l'injection était effectuée dans la minute qui suit le coït. KORDON et GLOWINSKI (1971) rapportent des résultats semblables chez le Rat.

(*) CA : Catécholamines
(*) DA : Dopamine

5) Résumé

Les travaux que nous venons d'examiner ont donc montré que l'hypothalamus médio-basal était une aire stratégique de l'arc réflexe neuroendocrinien. Des stimulations localisées de cette région (HAYWARD et al., 1964), (SAUL et SAWYER, 1957), (BENSCH et al., 1969) provoquent l'ovulation alors que des lésions localisées ou des implants stéroïdiens entraînent une atrophie ovarienne (DAVIDSON et SAWYER, 1961), (KANEMATSU et SAWYER, 1964, 1965), (FAURE et al. , 1965). Le site principal du feed-back négatif des stéroïdes semble donc se situer également dans cette région. Toutefois, les expériences d'implants hypothalamiques sont difficilement interprétables compte-tenu de la diffusion possible des substances (BOGDANOVE, 1963), (PALKA et al., 1966).

Il est d'autre part, peu vraisemblable que tous les éléments de la commande hypophysaire soient concentrés dans cette région.

Le but de notre travail est, donc, d'étudier au niveau de l'hypothalamus, les éléments nerveux concernés, de localiser les récepteurs hormonaux et d'étudier le déroulement des mécanismes hypothalamiques de la commande hypophysaire en les replaçant dans le contexte général de la mise en jeu de l'axe hypothalamo-hypophyso-gonadique, déjà étudié par différents auteurs (Tableau 0).

TABLEAU 0

Mise en jeu de l'axe hypothalamo-hypophyso-gonadique après coït chez le Lapin

Temps après le coït	C.N.S.	Hypophyse	Ovaire
min.	agents antiadrénergiques et sérotonine bloquant l'ovulation (1), (2).		
min.	phosphorylation du tuber (3)		
min.		exocytose des granules de sécrétion (9)	
min.		début de la libération de LH (4)	synthèse et libération de 20 - OH (10)
0 min.	Vidange des terminaisons Catécholam. (5)		
		hypophysectomie empêche l'OV (6)	ovariectomie supprime le pic de LH (8)
		20 % de la LH libérée	
0 min.		hypox n'empêche plus l'ovulation (6)	
0 min.		max. du taux plasmatique de LH (4)(7)	
00 min.	Modification des seuils E.E.G., d'E.V. et de P.P.S.	diminution considérable du taux plasmatique de LH (7)	

1) SAWYER et al. (1947, 1949)
2) CURRIE et al. (1969)
3) BORELL et al. (1947)
4) BARBE et al. (1972)
5) BENSCH et al. (1969)
(6) FEE and PARKES (1929)
(7) SCARAMUZZI et al. (1972)
(8) HILLIARD et al. (1967)
(9) SHIINO et al. (1972) - étude effectuée chez le Rat.
(10) HILLIARD et al. (1963).

Deuxième partie

I. MATERIEL ET TECHNIQUES

1. Techniques opératoires
2. Micro-électrodes
3. Montages électroniques
4. Protocole expérimental

Les expériences rapportées dans ce travail furent effectuées sur 153 Lapins femelles de la race "Fauve de Bourgogne" pesant de 2,5 à 3,3 Kg dont l'âge variait entre 6 et 8 mois (auxquels s'ajoutent 52 animaux utilisés dans des expériences annexes - autoradiographie, dosages radio-immunologiques - sommeil et hormones).

1. Techniques opératoires.

Les animaux sont anesthésiés au Nembutal (environ 1 cc par Kg) par voie systémique et placés dans l'appareil stéréotaxique de la précision cinématographique, le repérage des différents plans est effectué selon l'atlas de CHATELIER et BUSER. Après incision médiane du scalp, un trou de 4 à 5mm de diamètre est pratiqué dans le crâne à l'aide d'un trépan, la dure-mère est incisée, le puits de descente de la micro-électrode (fig. 9) est maintenu stéréotaxiquement au contact de l'os et fixé à celui-ci au moyen de ciment IVOCLAR. Les deux vis de soutien de la prothèse sont fixées dans l'os. L'enregistrement électroencéphalographique (E.E.G.) est réalisé au moyen de deux électrodes bipolaires en acier implantées dans les bulbes olfactifs et deux électrodes monopolaires en argent chloruré implantées au contact de la dure-mère au niveau du cortex postérieur. Ces électrodes sont soudées à une prise CANON à 15 plots (MD 1 - 15 PL 1) ; une couche de ciment IVOCLAR complète la prothèse; la pression artérielle carotidienne a également été réalisée chez un certain nombre d'animaux, un cathéter souple en silicone introduit dans la carotide est tunnelisé sous la peau et fixé sur la prothèse crânienne. Après une injection de terramycine l'animal est placé dans la cage d'enregistrement à éclairement programmé (5 - 19 h) et récupère de l'intervention pendant 3 jours.

L'hypophysectomie est réalisée par voie para-pharyngée selon la technique de RENNIE et al. (1964), et D.COTTINET, (1969).

2. Micro-électrodes.

Les micro-électrodes sont réalisées en platine isolé verre selon la technique de WOLBARSHT (1960). Un fil de platine de 0.2 mm de diamètre constitué de 70 % de platine et 30 % d'iridium est épointé par affinage électrolytique et isolé au verre dans un four constitué par une ance de platine ; la pellicule de verre recouvrant la pointe est craquée dans un bain de chlorure de platine. L'impédance est mesurée et l'isolement vérifié au moyen du même bain, les micro-électrodes sont ensuite montées dans un support coulissant.

Le système de descente de la micro-électrode est constitué d'un puits implanté sur l'animal dans lequel peut tourner la pièce excentrée de 0.5 mm. Ce dispositif permet l'exploration d'une circonférence de 1 mm de diamètre dont le centre a été repéré stéréotaxiquement (fig. 3). L'électrode est mobilisée par voie hydraulique de l'extérieur de la cage afin de ne pas déranger l'animal, celui-ci est libre de tout mouvement tout au long de l'expérimentation dans une cage de 1 m^2.

3. Description des différents montages électroniques utilisés.

Le schéma général du montage expérimental le plus fréquemment utilisé est représenté sur la figure (4).

Le jour de l'expérimentation, la micro-électrode est mise en place, elle est reliée à un adaptateur d'impédance à effet de champ (2 N 3967 A) placé directement sur

la tête de l'animal afin d'éviter les artéfacts de mouvement. Cet adaptateur d'impédance est suivi d'un amplificateur à circuits intégrés (fig. 5), de gain 5000 dont la bande passante est coupée à 5 Khz afin de limiter le bruit de fond. Le signal ainsi amplifié, constitué des potentiels d'action cellulaires et de l'onde lente E.E.G., est envoyé successivement sur un enregistrement magnétique AMPEX SP 300, un oscilloscope de contrôle et un filtre passe haut destiné à éliminer la trace lente ; le signal est ensuite mis en forme (trigger de SCHMITT) et les potentiels d'action sont comptés au moyen d'un compteur à décades. L'E.E.G. est enregistré sur un polygraphe ALVAR sur lequel sont également enregistrés des potentiels d'action après mise en forme et intégration (DUFY, 1965).

L'activité n'étant pas toujours unitaire, mais comportant parfois plusieurs potentiels d'action d'amplitude différente, nous avons réalisé un compteur à décades comportant 3 voies (fig. 6) de 3 décades chacune, soit 9 décades du type de celle de la figure 7, afin de différencier les potentiels suivant leur amplitude ; la visualisation est effectuée sur tube NIXIE.

Les mises en forme sont constituées par des triggers de SCHMITT de seuil réglables ; les fenêtres de comptage sont réalisées par 3 circuits NAND (fig. 8). Les bases de temps manuelle et automatique sont de type classique et permettent des temps de comptage de 0.5,1, 2, 5 et 10 sec.

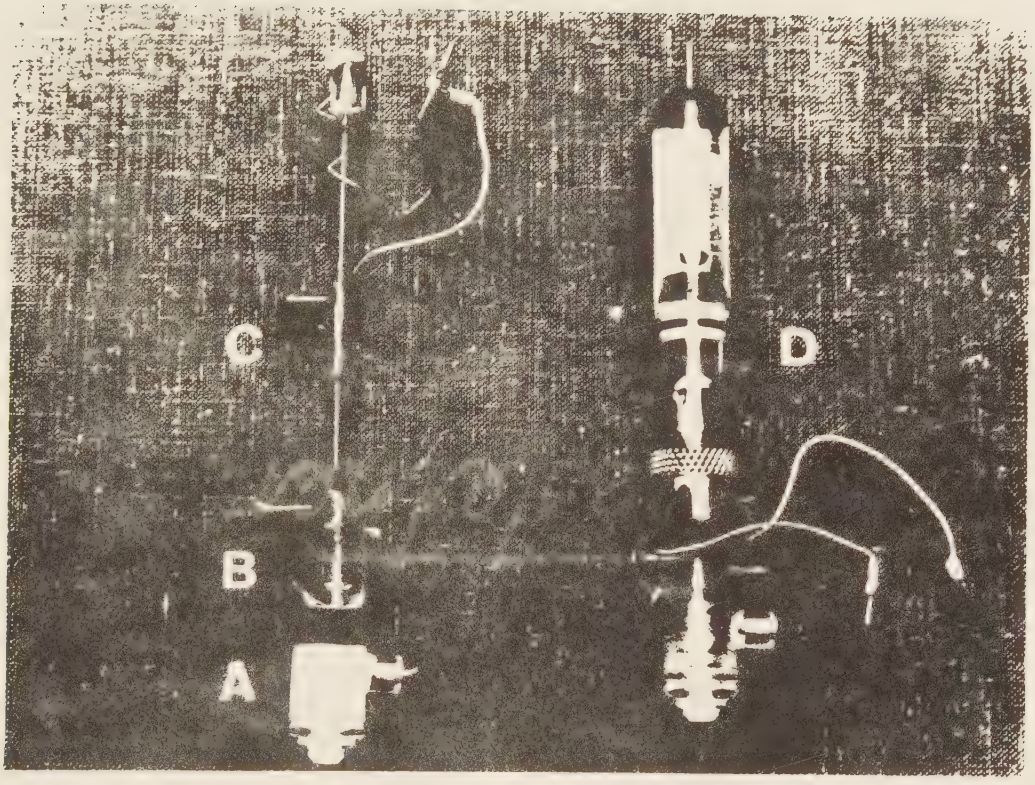


Figure 3.

Dispositif de descente de la microélectrode,

A : puits de descente

B : pièce excentrée permettant l'exploration des neurones répartis sur une circonférence de rayon 0.5 mm

C : microélectrode dans son support

D : ensemble du dispositif montrant le système de mobilisation à distance de la microélectrode.

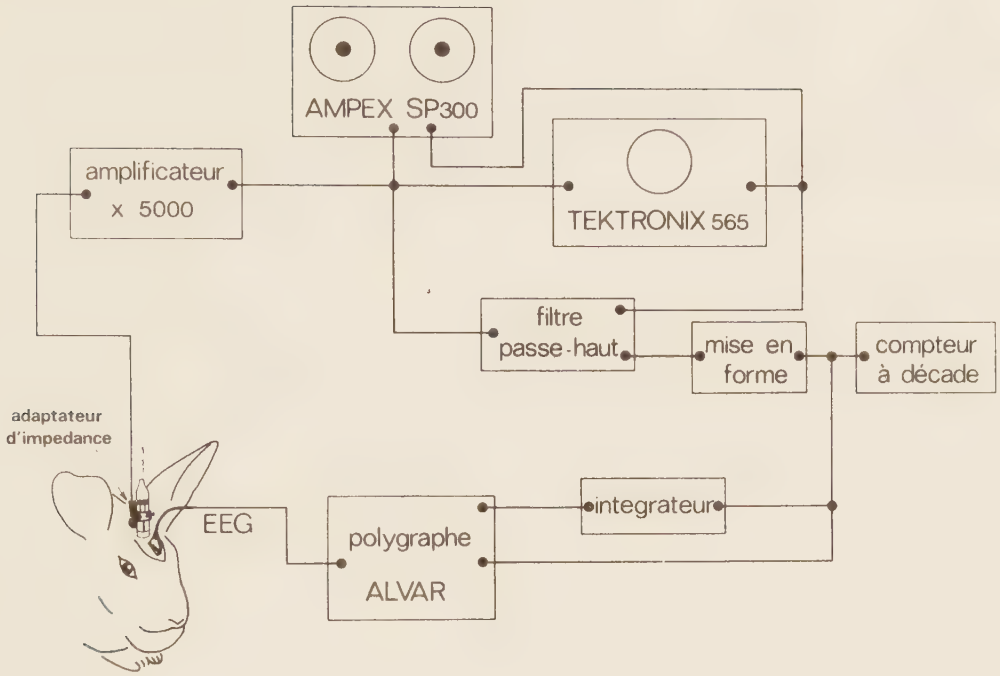
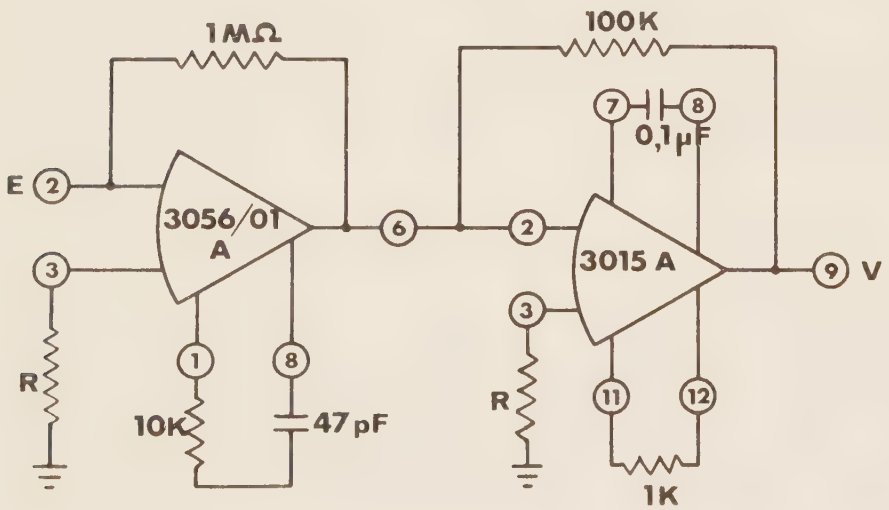


Figure 4.

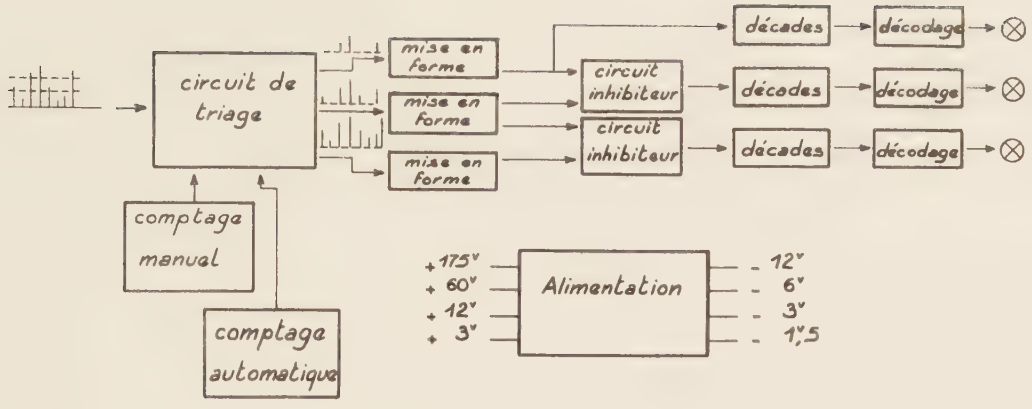
Schéma général du montage expérimental.



SCHEMA DE PRINCIPE

Figure 5.

Amplificateur faible bruit à circuits intégrés.



SCHEMA SYNOPTIQUE

Figure 6.

Schéma synoptique du compteur à décade

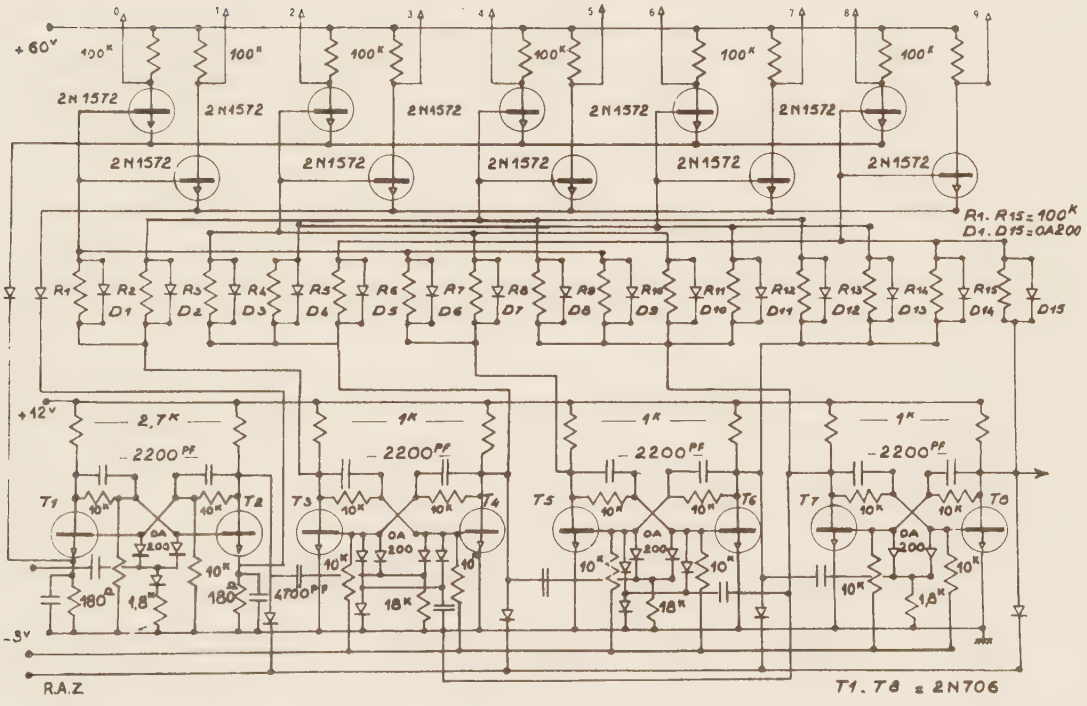
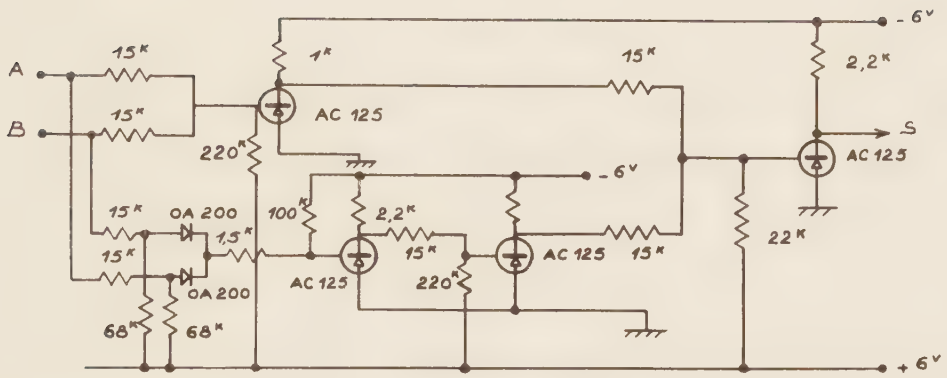


Figure 7.

Schéma d'une décade et de la matrice de décodage



CIRCUIT INHIBITEUR

Figure 8.

Circuit NAND utilisé pour supprimer, en sortie (S) deux impulsions qui se présentent en même temps sur les voies A et B.

4. Protocole expérimental.

L'expérimentation principale porte sur trois séries d'animaux. Le premier groupe comprend des animaux normaux ayant hypophyse et ovaires ; 3 jours après l'implantation, il est procédé à un enregistrement témoin destiné principalement à habituer l'animal au port du casque ; l'expérimentation proprement dite se déroule à partir du 4ème jour ; une micro-électrode ayant été descendue dans la zone choisie, il est procédé pendant approximativement une demi-heure à l'enregistrement de l'activité unitaire de cette zone, sous différents niveaux de vigilance, comportant au moins les stades d'Eveil et de Sommeil Lent ; la stimulation vaginale SV est effectuée au moyen d'une tige de plastique mue électriquement à la fréquence de 25 c/sec. pendant 1 min., l'enregistrement est poursuivi ensuite pendant une période de 30 à 60 min. après la stimulation.

Deux jours après la stimulation vaginale une laparotomie exploratrice effectuée sous anesthésie à l'éther permet de constater d'éventuelles traces d'ovulations récentes.

Le deuxième groupe expérimental comporte des animaux castrés, le schéma général de l'expérimentation est le même que précédemment, la SV étant remplacée par une injection systémique de stéroïdes ovariens (veine marginale de l'oreille).

Les doses injectées sont de 50 µg de benzoate d'oestradiol ou 50 µg d'estrone, 250 µg de progestérone ou 250 µg de 20 α - Hydroxy-pregnen-4-en-3-one (20 α - OH)

dissous dans une solution de propylène glycol titrant en volume 60 % de propylène glycol et 40 % d'eau. Plusieurs injections ont été réalisées chez le même animal à quelques jours d'intervalle ; elles ont été précédées par une injection du solvant.

Le troisième groupe comporte des animaux castrés et hypophysectomisés. L'injection de stéroïde a été alors remplacée par une injection d'hormone hypophysaire LH ou FSH fournies par le laboratoire du Pr JUTISZ et dont les rapports d'activité sont respectivement :

$$LH - M_3 = 2.55 \times NIH - LH - S_1$$

$$FSH - M_2 = 8.18 \times NIH - FSH - S_1$$

Les doses injectées sont de 50 µg de LH - M_3 ou 250 µg de FSH - M_2 dans du sérum physiologique. Des S.V. ont également été réalisées chez les animaux hypophysectomisés et castrés ; la position de la pointe de la microélectrode est déterminée par destruction électrolytique (1 mA, 5 sec.). Les coupes sont effectuées au microtome en congélation et colorées suivant la technique de KLUVER et BARRERA.

5) Analyse des données.

- Le temps de comptage est de 1 sec. toutes les 5 sec.

- Les résultats expérimentaux expriment la fréquence moyenne déterminée à partir d'échantillons de 10 comptages consécutifs ainsi que l'écart type correspondant.

Deux types de tests statistiques ont été utilisés :

(1) Le test de Student courant qui permet de comparer les moyennes de deux distributions ; il nous a permis d'établir les limites en dehors desquelles doit se situer la fréquence moyenne de l'activité spontanée enregistrée après une manipulation expérimentale, afin qu'elle puisse être considérée comme significativement différente des fréquents témoins (0.05).

(2) Le test "t" couplé a été utilisé lorsque plusieurs expériences comparables ont été réalisées ; ce test qui porte, non pas sur les valeurs individuelles mais sur leur différence par rapport aux témoins, permet de mieux mettre en évidence une tendance réelle.

La description détaillée de chacune de ces deux méthodes figure dans les ouvrages de K. MATHER (Analyse statistique en biologie - GAUTHIER ET VILLARS) et de COX et LEWIS (The Statistical Analysis of series of events - METHUEN).

II. DONNEES MORPHOLOGIQUES

1. - Organisation générale de l'hypothalamus
2. - Groupe antérieur
3. - Groupe médian
4. - Groupe postérieur

Les divergences et contradictions parfois rencontrées dans la littérature proviennent le plus souvent d'un manque de précision dans la localisation des différentes expérimentations de lésion, de stimulation, d'implantation ... Cette imprécision tient à deux particularités anatomiques de l'hypothalamus : (1) une différentiation architectonique floue : arrangements cellulaires diffus, limites entre les condensations cellulaires inexistantes ou mal définies ; (2) une indétermination fonctionnelle : les aires hypothalamiques, dont la stimulation ou la lésion suscite des effets spécifiques, ne correspondent généralement pas à des entités morphologiques définies. Ainsi,

l'aire hypophysiotrope de HALASZ et al. (1962, 1965) comprend chez le Rat des noyaux aussi différents que le noyau arqué, une aire prémamillaire, une partie du noyau ventromédian et l'aire hypothalamique antérieure (FLAMENT-DURAND, 1964, 1965, 1970).

Cette indétermination spatiale et fonctionnelle n'exclut pas la possibilité de voir des groupes cellulaires morphologiquement définis représenter des unités fonctionnelles comme c'est le cas pour les noyaux supraoptiques et paraventriculaires. La classification anatomique et l'énumération des zones hypothalamiques pourra donc comprendre (1) des groupes bien circonscrits comportant un type bien défini de cellules nerveuses et jouissant d'une unité fonctionnelle, (2) des groupes cellulaires comportant plusieurs variétés de neurones et enfin (3) des ensembles plus ou moins bien différenciés de cellules distribuées sur des étendues plus ou moins larges. Ces ensembles de cellules de types différents répartis au milieu de systèmes de fibres seront désignés sous le nom général d'aire hypothalamiques J.D. CHRIST (1969), GROSBY and SHOWERS (1969), NAUTA and HAYMAKER (1969), SAWYER et al. (1954). L'atlas de CHATELIER et BUSER (1961) sera utilisé comme référence dans toute la suite de ce travail.

1. - Organisation générale de l'Hypothalamus.

La classification des noyaux hypothalamiques est celle adoptée par KUHLENBECK (1954) et CHRIST (1969). Les figures de 9 à 14 représentent des photographies de coupes

histologiques normales d'épaisseur 10/ug colorées par la méthode de KLUVER et BARRERA (1953) absolument identiques à celles utilisées pour la localisation des microélectrodes. Les principaux noyaux hypothalamiques y sont assez facilement identifiables. Ils se répartissent en trois groupes suivant les trois grandes régions de l'hypothalamus : antérieur, médian, postérieur.

2. - Groupe antérieur.

L'"area preoptico periventricularis" est constituée par un arrangement linéaire de petites cellules diffuses situées le long du troisième ventricule qui se distingue trés mal tant des cellules épendymaires que du nucleus preopticus medialis situé à sa partie latérale - celui-ci comprend des cellules de taille moyenne ; il se distingue plus ou moins facilement du nucleus praeopticus lateralis qui renferme un agregat de cellules diverses et qui est considéré comme un noyau interstitiel du faisceau télencéphalique médian, il se poursuit par l'aire hypothalamique latérale.

A côté de ces zones diffuses, difficilement identifiables nous trouvons trois noyaux bien délimités : le nucleus suprachiasmaticus est situé au-dessus du chiasma optique entre celui-ci et le troisième ventricule ; c'est une masse compacte de petites cellules ; à sa partie dorso-latérale on trouve un noyau assez bien délimité : le nucleus antérior hypothalamicus. Ce dernier est constitué

de différents types de cellules de tailles petites et moyennes n'ayant pas de particularité cytologique ; il prend souvent le nom d'aire hypothalamique antérieure (AHA), on pourra remarquer combien cette aire est différente chez le Rat : en position relative, dimension, etc... (ALBE-FESSARD et al., 1966). Enfin, on trouve le nucleus supra-opticus, qui s'étend à la partie dorso-latérale du chiasma et du tractus optique ; de petits groupes de cellules, appartenant à ce noyau, se rencontrent entre le noyau supra-optique et le noyau paraventriculaire ou nucleus paraventricularis (NPV) ; celui-ci forme deux masses triangulaires de part et d'autre du 3ème ventricule, constituées de cellules de tailles variées. Il est généralement classé parmi les noyaux du groupe antérieur, chez le Lapin, cependant il est plutôt médian, s'étendant à la partie dorsale du noyau dorso-médian jusqu'à l'aire hypothalamique dorso-caudale (plan A 14).

3. - Groupe médian.

Il comprend : l'area hypothalamica lateralis (AHL), continuation du noyau préoptique latéral (NPL) ; c'est une aire anisomorphe de cellules de types différents, au milieu desquelles circulent les fibres du faisceau télencéphalique médian, aire trés mal délimitée. A la partie médio-basale de l'hypothalamus on rencontre le nucleus arcuatus (ARC) ou infundibularis. Il contient principalement deux types de cellules : de petites cellules à gros

noyaux et de grosses cellules qui excitent la fluorescence et sont vraisemblablement dopaminergiques, le rôle physiologique de ces deux populations sera discuté. A sa partie dorso-latérale on rencontre le nucleus hypothalamicus ventromédialis (VMH), groupe cellulaire important, de forme ovoïde assez bien délimitée, la densité des cellules de petite et moyenne taille étant relativement grande sur les bords du noyau. Par contre, le nucleus hypothalamicus dorsomédialis (DMH) a des frontières assez floues ; les cellules que l'on y rencontre sont assez semblables à celles observées dans le VMH.

4. - Groupe postérieur.

L'"area hypothalamica posterior" (AHP) est une aire trés mal définie, située à la partie dorsale du noyau ventro-médian et du complexe mamillaire ; elle est constituée de petites cellules sans caractéristiques spéciales. Dans la partie basale de l'hypothalamus postérieur, à l'avant du complexe mamillaire, on rencontre un groupe compact formé de l'area periventricularis posterior longeant la partie postérieure du 3ème ventricule sur la face interne du nucleus praemammillaris ; les cellules de ces deux groupes sont d'aspect voisin ; dorsalement par rapport au complexe mamillaire on trouve un ensemble assez large et diffus de cellules de taille relativement importante constituant le nucleus supra-mammillaris.

Nous désignerons sous le nom d'aire prémamillaire

la zone hypothalamique comprenant la partie postérieure du noyau arqué (à partir du plan A 14) et le nucleus praemammillaris; l'importance fonctionnelle de cette zone apparaîtra au cours de ce travail.

Ces grands systèmes neuroniques sont traversés par de nombreuses fibres : qu'il s'agisse de systèmes de fibres propres à l'hypothalamus ou de grands systèmes afférents et efférents comme le faisceau médian du télencéphale, voie longitudinale majeure, le fornix, le tractus mamillo-thalamique, et....

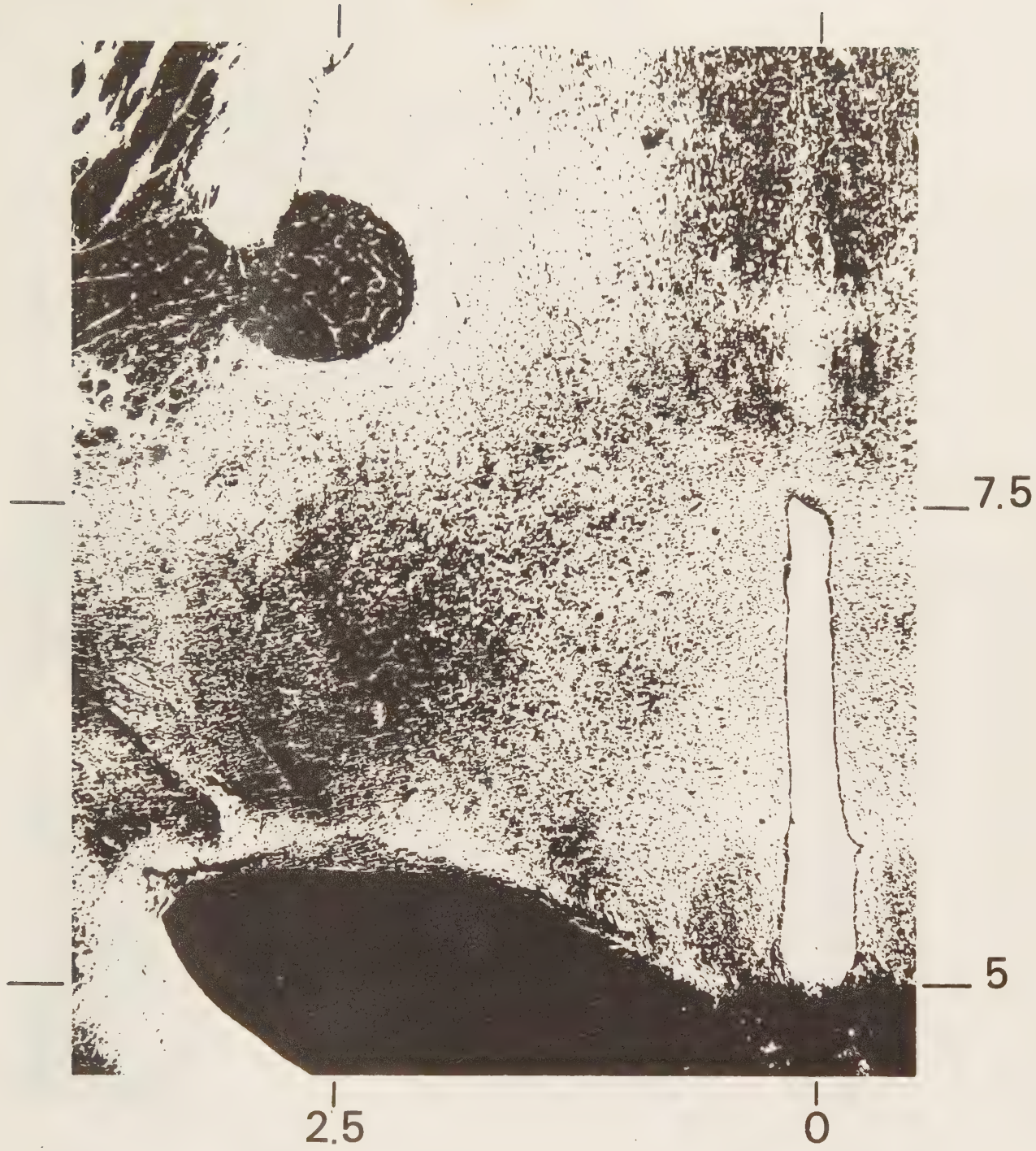


Figure 9

Coupe de l'Hypothalamus antérieur au niveau du plan A 17 de CHATELIER et BUSER (1961). On reconnaît aisément le nucleus supra-chiasmaticus, le nucleus antérior hypothalamicus, et le nucleus supra-opticus.

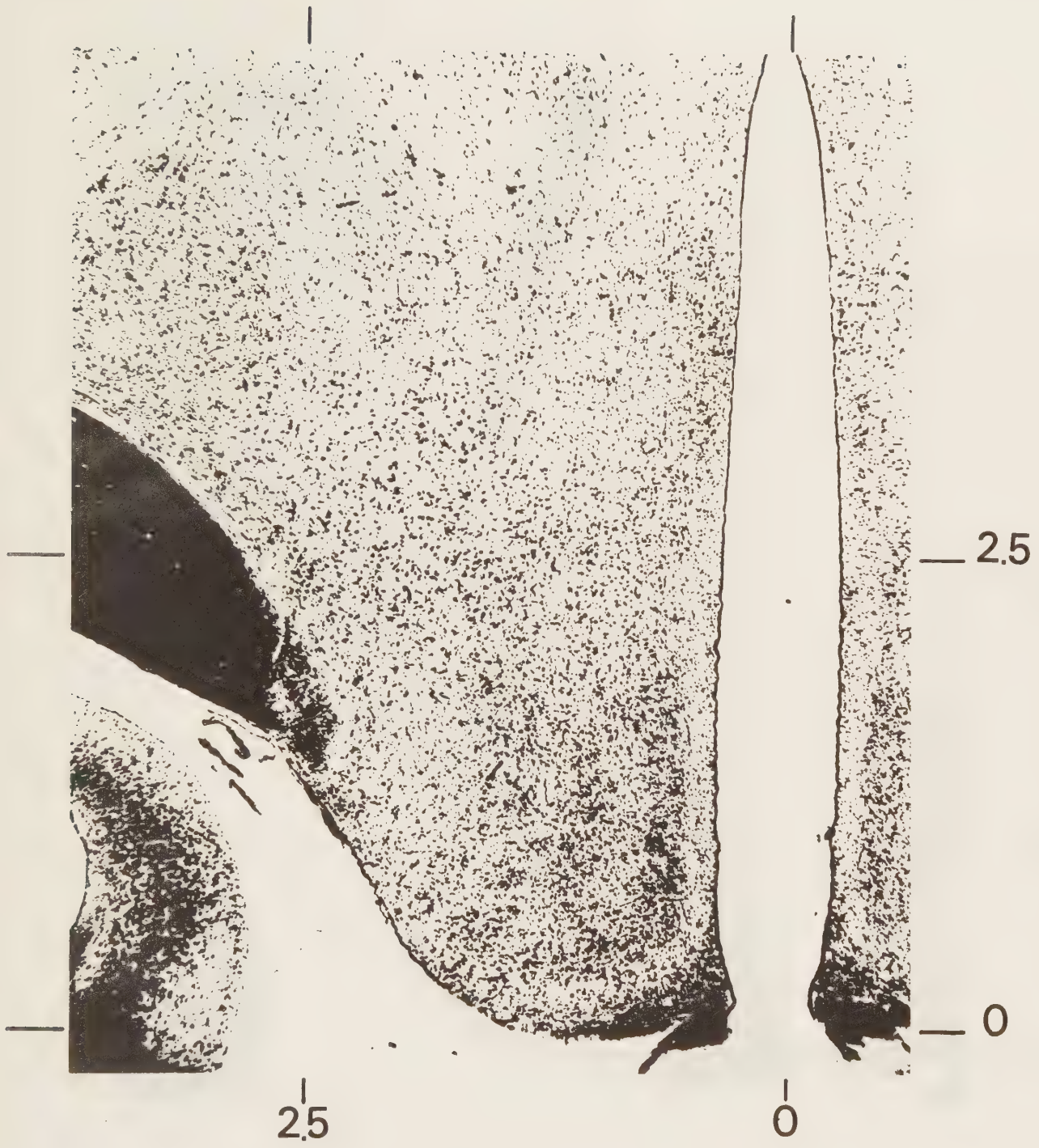


Figure 10

Coupe de l'Hypothalamus antérieur au niveau du plan A 16. On reconnaît principalement le début des nucleus arcuatus et hypothalamus ventro-médialis.

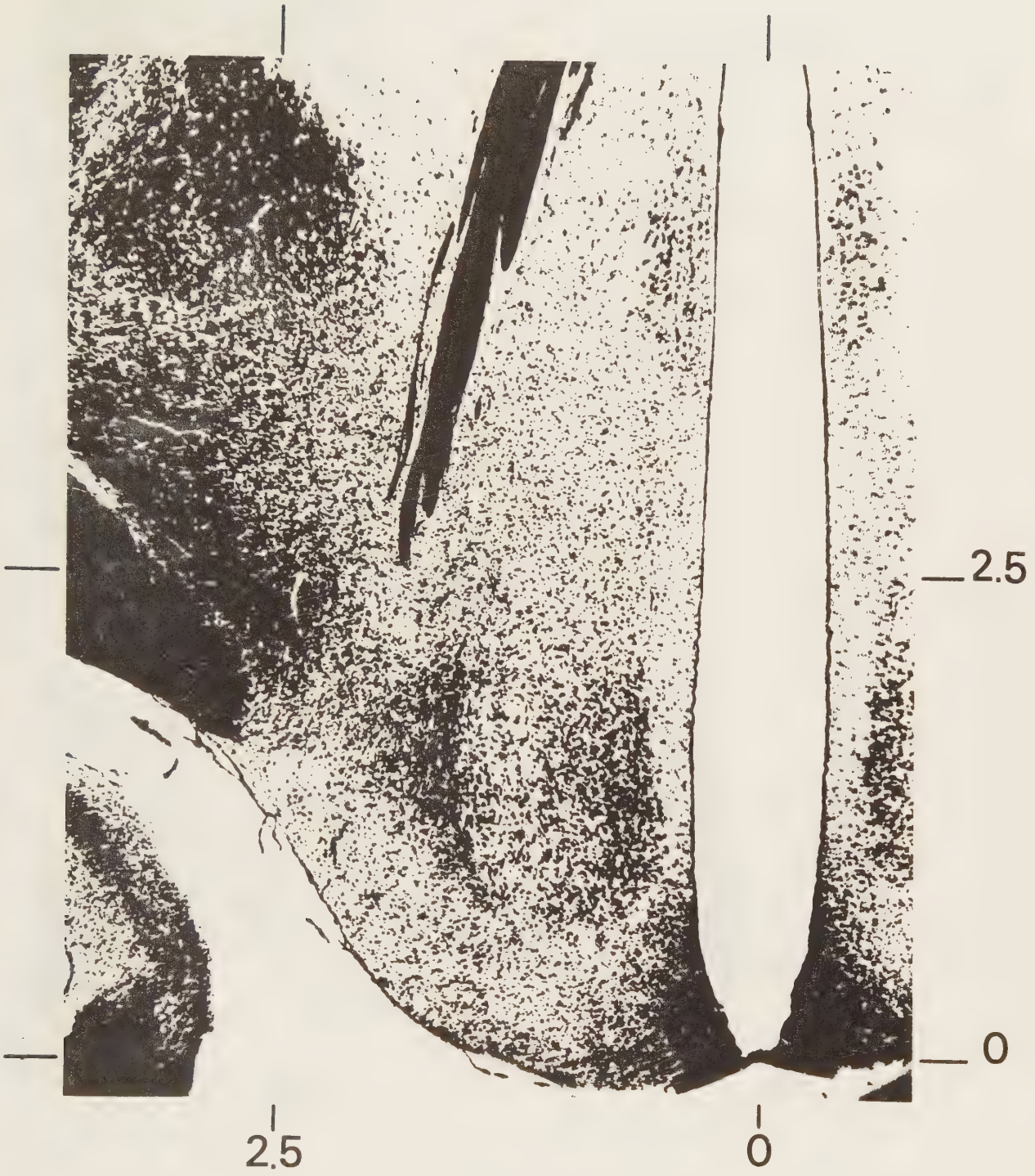


Figure 11

Coupe de l'Hypothalamus au niveau du plan A 15 montrant la disposition des nucleus arcuatus et hypothalamicus ventro-medialis ; on remarque également le Fornix et le nucleus para-ventricularis.

Figure 12

Coupe de l'Hypothalamus médian au niveau du plan A 14 ou le Fornix et les noyaux du groupe médian se différentient assez bien.

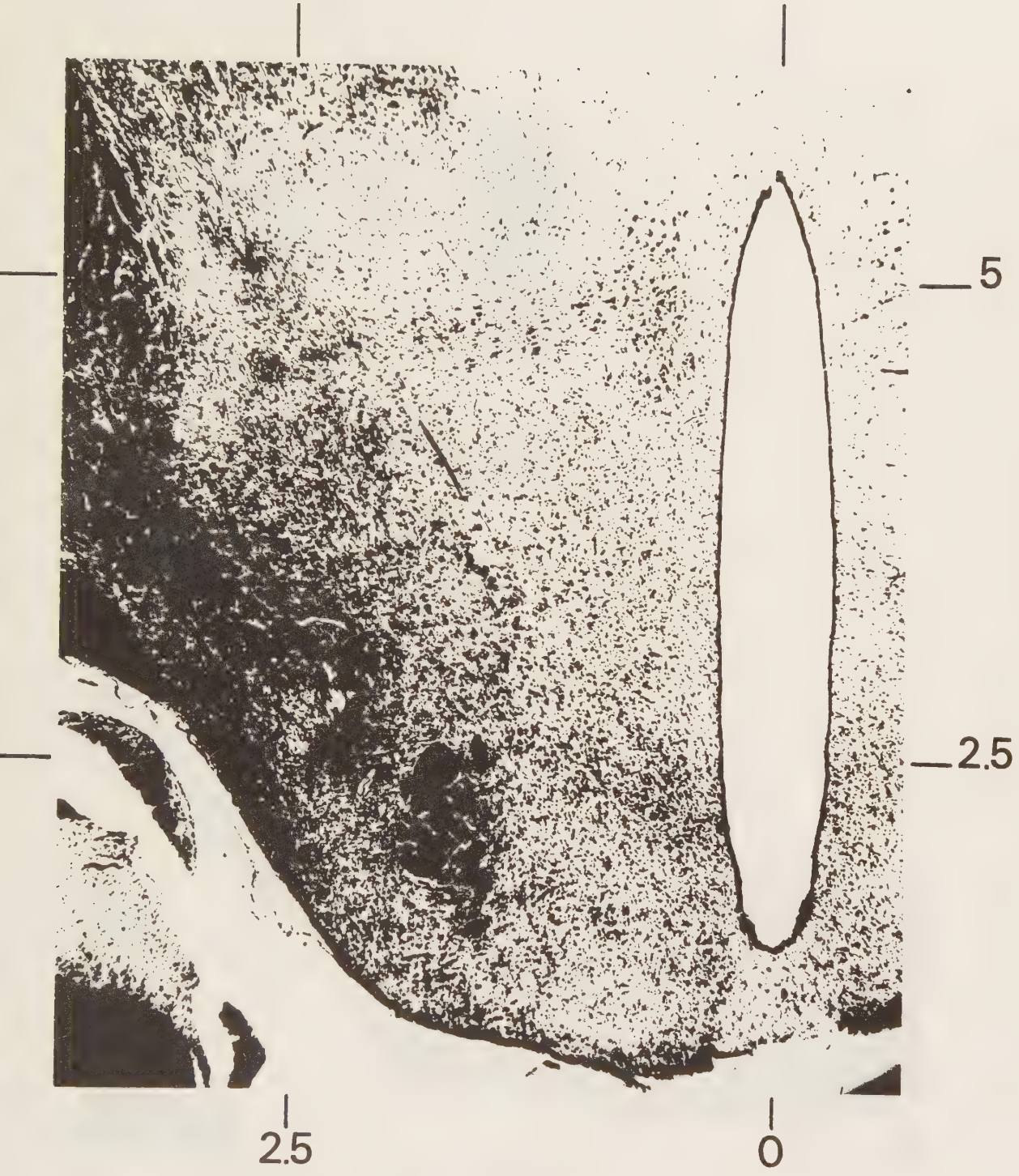


Figure 13

Coupe de l'Hypothalamus au niveau de l'aire prémamillaire (plan A 13.5).

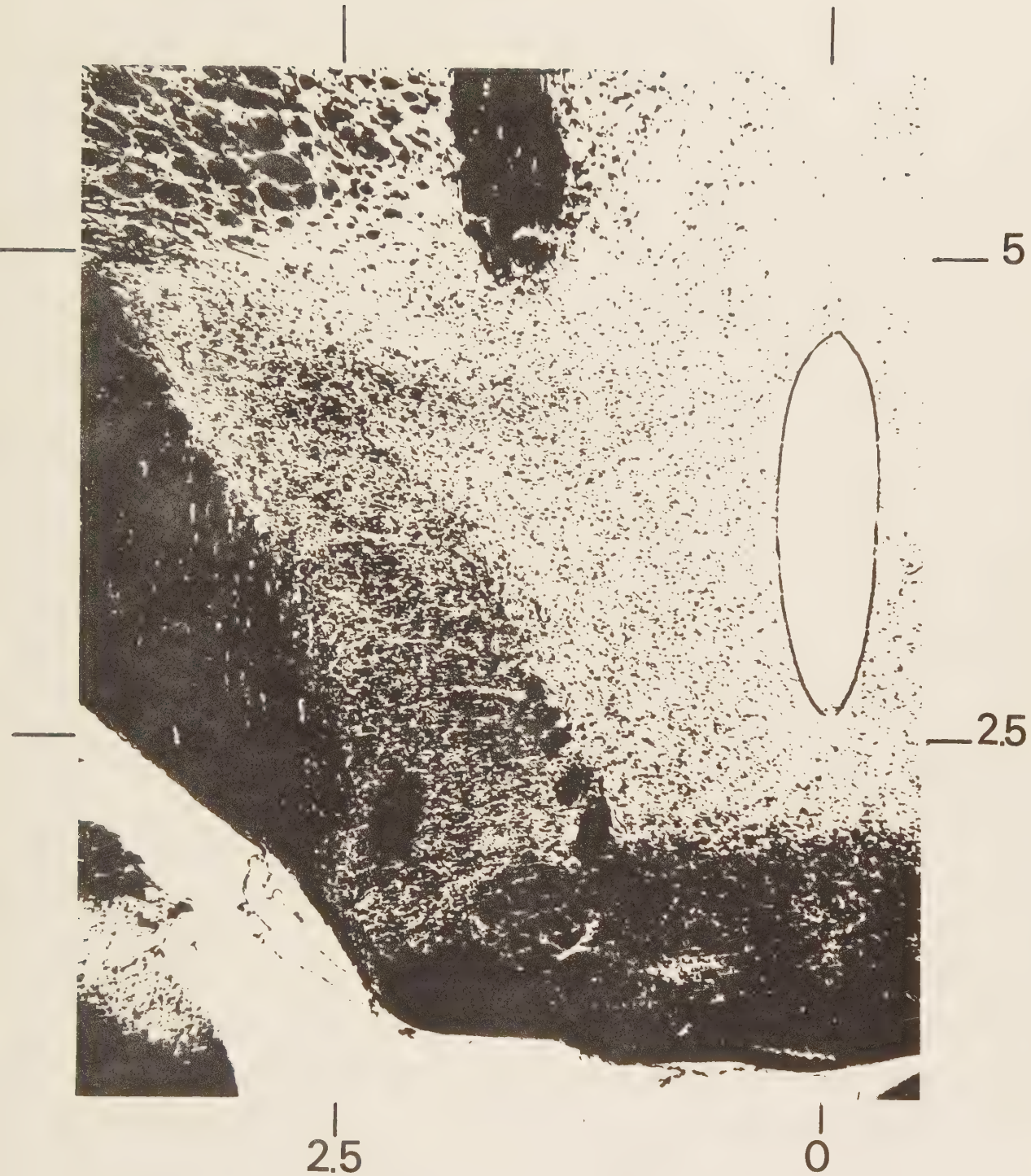


Figure 14

Coupe de l'Hypothalamus postérieur (plan A 13) montrant le nucleus supra-mammillaris et l'area hypothalamica posterior.

Troisième partie

. ANALYSE COMPORTEMENTALE DES CORRELATIFS DE L'OVULATION

1. Stimulation vaginale et niveaux de vigilance
2. Hypophysectomie et injection hormonale
3. Incidence des modifications de la vigilance sur l'ovulation
4. Discussion

Nous savons que les modalités d'intervention du système nerveux central dans la régulation endocrinienne comprennent, à côté d'actions nerveuses spécifiques, de nombreuses actions non spécifiques susceptibles de moduler l'activité des aires à compétence gonadotrope, (SAWYER, 1959), (FAURE et al. 1956, 1968), (MOTTA et al., 1970). C'est ainsi par exemple que, chez le Rat, COLVIN et al., (1969, BARBE et al., (1969) qui observent un rythme circadien de veille et de sommeil voient ce rythme modulé par la surimposition

d'un rythme oestrien avec une augmentation de la durée des stades d'éveil et une diminution du sommeil lent et du sommeil paradoxal le jour du proestrus. Les mécanismes de l'ovulation ne peuvent donc être considérés indépendemment du contexte physiologique car ils mettent en jeu, non seulement des aires stratégiques, mais l'ensemble du système nerveux central et modifient le comportement animal. Ainsi les modifications observées au niveau des structures hypothalamiques peuvent être l'expression de mécanismes spécifiques mais aussi non spécifiques.

Chez le Lapin des comportements particuliers associés à des types d'E.E.G. particuliers furent observés à la suite d'injections hormonales par FAURE (1956) ; chez cette même espèce SAWYER et KAWAKAMI (1959), FAURE et BENSCH (1962), FAURE (1964) remarquaient une "post-réaction E.E.G." après le coït ou la stimulation vaginale. Ce type de comportement contenait une phase actuellement reconnue comme phase paradoxale de sommeil. Ce SP était attribuée par KAWAKAMI et SAWYER (1959, 1 et 2) à un feed-back des hormones hypophysaires libérées par le coït. Confirmant cette hypothèse ils montraient que l'injection de LH entraînait l'apparition de sommeil paradoxal chez l'animal normal et que le coït chez l'animal hypophysectomisé était incapable d'induire la phase de sommeil paradoxal. Ces résultats étaient confirmés par SPIES et al. (1969) mais ceux-ci furent incapables d'induire la phase de sommeil paradoxal chez la Lapine hypophysectomisée et ovariectomisée au moyen

d'injections intraveineuses de LH. Ces expériences reposaient le problème de l'"E.E.G. after-reaction" et de sa phase paradoxale ; le SP est-il nécessaire, représente-t-il un phénomène actif ou est-il simplement un phénomène secondaire, entraîné par les mécanismes de libérations hormonales. Coït et stimulation vaginale n'étant pas toujours suivis d'ovulation, l'étude des niveaux de vigilance chez des animaux où le coït est suivi d'une ovulation et chez des animaux où il est inefficace devait donner une première indication sur la nécessité de la phase paradoxale.

1. Stimulation vaginale et niveaux de vigilance.

Les résultats de cette étude sont présentés sur 16 animaux répartis en deux groupes suivant qu'ils ont ovulé (O) ou qu'ils n'ont pas ovulé (P). Les deux classes devaient comprendre le même nombre d'animaux afin de pouvoir comparer plus facilement les probabilités d'apparition des différents niveaux de vigilance. L'étude a été effectuée sur les 30 min. qui suivaient la stimulation, la phase de sommeil paradoxal provoquée se produisant dans cet intervalle de temps, une étude plus longue risquait de faire intervenir une phase spontanée (SPIES et al., 1970).

Le tableau I permet de comparer les pourcentages de différents niveaux de vigilance chez des animaux pour qui la SV sera suivie d'ovulation (O) et chez ceux pour qui la SV sera inefficace (P). Il est évident, d'après ce tableau,

que ni le pourcentage de SP ni ceux de SL ou d'EV ne sont significativement différents.

Toutefois, le pourcentage de SL est plus important que celui généralement obtenu sur une période de 14 heures d'éclairement chez un animal normal exempt de tout traitement, qui est de 25 % (NAREBSKI et al., 1969). Les résultats que nous avons obtenus en dissociant les jours et les nuits correspondent pour 14 heures d'éclairement à 71,03 % d'EV, 26,94 % de SL, 2,04 % de SP (tableau I).

Par contre, la répartition des phases de SL et d'EV est trés différente dans les deux groupes. Les animaux du groupe O représentent une grande probabilité de sommeil entre la 4è et la 12è min., entre la 15è et la 22è, et entre la 25è et la 30è (fig. 15) alors que pour le groupe P la répartition est tout à fait aléatoire, 50 % des animaux sont en SL et 50 % sont éveillés.

Bien que ces expériences établissent de façon assez claire que le SP n'est pas forcément obligatoire à la réussite de l'ovulation, elles sont encore insuffisantes pour montrer les relations entre vigilance et régulation gonadotrope. Le type particulier de la répartition des phases de SL après stimulation vaginale entraînant l'ovulation pouvant représenter, comme le pensaient KAWAKAMI et SAWYER (1959), un effet feed-back des libérations hormonales, les mêmes expériences de stimulation vaginale ainsi que des injections hormonales ont été réalisées sur des animaux hypophysectomisés et castrés.

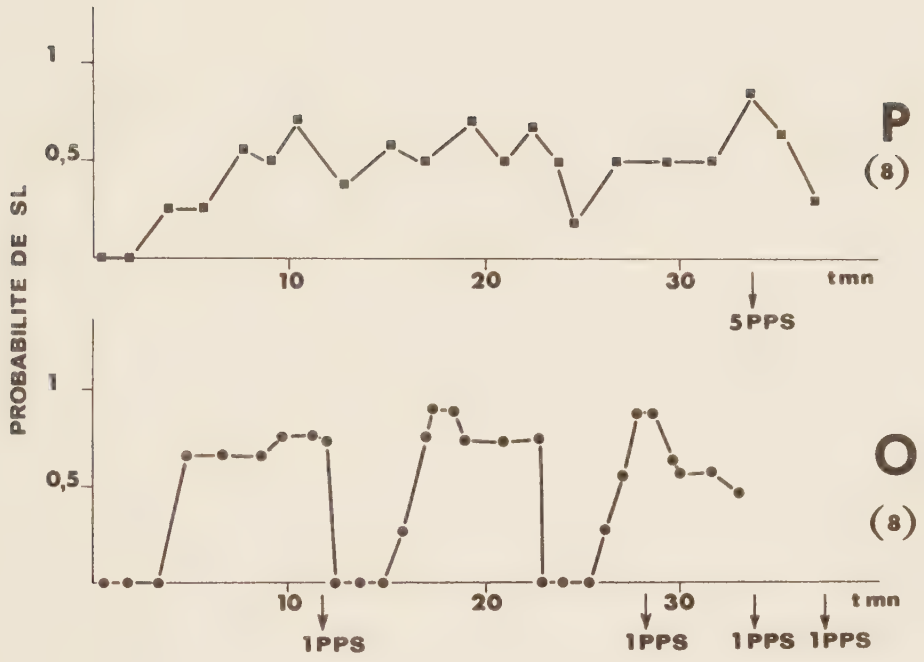


Figure 15.

Répartition en probabilité des phases de sommeil lent après une stimulation coïtale chez 16 animaux répartis en deux groupes suivant que la stimulation coïtale sera inefficace (groupe P) ou qu'elle conduira à l'ovulation (groupe O).

TABLEAU I.

Pourcentage des différents niveaux de vigilance chez des animaux témoins et après SV

Témoins
71 , 03
26 , 94
2 , 04

	O	P
% EV	49 , 90	49 , 88
% SL	45 , 88	46 , 63
% SP	3 , 14	3 , 92

O : Ovulation

P : Pas d'Ovulation

- Pourcentage de EV, SL et SP sur une période de 30 min., suivant une stimulation vaginale.
- Le taux normal des différents niveaux de vigilance a été calculé sur des périodes de 14 h en éclairement (Témoins).

2. Hypophysectomie, injection hormonale et niveaux de vigilance.

5 Lapines hypophysectomisées et castrées ont été utilisées dans cette expérience.

Le tableau 2 indique les pourcentages des différents niveaux de vigilance obtenus après différents traitements.

TABLEAU II

Pourcentages des différents niveaux de vigilance chez des animaux hypophysectomisés et ovariectomisés en l'absence de différents traitements et après ceux-ci.

%	Hypox-ovx (% sur 14 h)	Hypox - ovx (% sur 1/2)			
	Témoins	SV	LH	FSH	LH + FSH
EV	64 , 92	79 , 17	72 , 90	80	24 , 43
SL	31 , 51	20 , 89	27 , 10	20	65 , 00
SP	3 , 55	0	0	0	10 , 57

La stimulation vaginale, l'injection de LH et l'injection de FSH n'entraînent pas de modification sensible des niveaux de vigilance par rapport aux témoins hypox-ovx. Les légères augmentations de l'Eveil que l'on observe après SV, LH et FSH peuvent être attribuées à l'ouverture de la cage et la manipulation de l'animal nécessaire au traitement. Il est par contre intéressant de remarquer qu'une solution contenant LH et FSH s'accompagne d'une augmentation considérable du SL et du SP ($P < 0.01$).

Le type de répartition des phases de SL observées chez l'animal intact à la suite d'une stimulation entraînant l'ovulation ne se retrouve pas chez l'animal hypox-ovx ; ceci n'est pas surprenant car l'injection brutale dans la veine marginale d'une forte dose d'hormones reproduit difficilement la libération physiologique continue ou semi-continue.

D'après ces expériences il semble donc bien que les phases de sommeil obtenues après SV ou coït soient dûes à un effet feed-back des libérations hormonales de LH sur un fond de FSH. Il restait alors à savoir si un certain % de sommeil lent associé ou non à une certaine répartition de ces phases était nécessaire à l'ovulation. Le meilleur moyen était de supprimer le plus totalement possible le sommeil lent et d'étudier l'incidence de cette suppression sur l'ovulation.

3. Incidence des modifications de la vigilance sur l'ovulation.

Depuis les travaux de JOUVET (1967) on sait que la sérotonine intervient dans les mécanismes du sommeil lent ; un inhibiteur de la tryptophan-5-hydroxylase la parachloro-phénylalanine (PCPA), (KOE et al., 1966) permet d'obtenir une diminution du contenu cérébral de sérotonine ainsi qu'une diminution de la durée du sommeil lent (KOELLA, 1968).

16 animaux ont été utilisés dans cette expérience. 300 ug/Kg de PCPA ont été injectés intra-péritonéalement. L'enregistrement continu 24 h sur 24 permettait de déceler un minimum de sommeil lent entre la 48è et la 72è heure après l'injection. Le pourcentage normal de sommeil lent de 25 % (16 min./h) pouvait être ramené à 1 % (37 sec./h) dans les meilleurs cas et 4 à 5 % en moyenne. Le coït était pratiqué lors du minimum de sommeil lent. Sur les 16 animaux 7 ont ovulé normalement, 9 n'ont pas ovulé. Pendant les 30 min. qui ont suivi le coït aucun n'a présenté de phase de sommeil excédant 1 à 2 min. et cela uniquement aux environs de la 30è minute (RODRIGUEZ et al., sous presse). Nous avons également remarqué que si du bruit était effectué autour de la cage, après coït ou SV, l'animal ne dormait pas, mais cela ne l'empêchait pas d'ovuler.

4. Discussion

Ces résultats montrent que SP et SL paraissent être favorisés chez les animaux hypophysectomisés et ovariectomisés par l'association des deux hormones LH et FSH ; il n'est donc pas surprenant que SPIES et al., (1970) aient pu induire du SP par des injections de LH chez des animaux intacts, qui présentaient un certain taux de base de FSH et que la même injection ait été inefficace chez des animaux hypophysectomisés.

Le type périodique de répartition des phases de sommeil lent observé après une stimulation qui induit effectivement une ovulation semble en accord avec la théorie de HILLIARD et al., (1967) sur la libération des gonadotrophines, suivant laquelle une première libération de LH déclenche une libération de 20 - OH par l'ovaire, qui à son tour assure la libération massive de LH nécessaire à l'ovulation. Ces deux libérations de LH, associées à un certain taux de base de FSH pourraient induire ce type particulier de répartition des phases de sommeil.

Il est surprenant que la stimulation inefficace, bien qu'elle se soit pas suivie d'une répartition périodique des phases de sommeil n'en soit pas moins suivie du même pourcentage de SL, si la stimulation vaginale positive

est suivie d'une libération massive de LH, la stimulation négative est aussi suivie d'une faible libération continue, qui est peut-être suffisante pour favoriser un certain état de SL. On peut également voir dans ce phénomène un effet de l'ocytocine qui, soit exogène (injection systémique), soit endogène (stimulation des mamelons), favorise le SL.

Il semble donc que les mécanismes du sommeil et les mécanismes neuro-endocriniens ne soient pas dans un rapport nécessaire de dépendance et de subordination. Le sommeil lent et le sommeil paradoxal ne sont pas "nécessaires" à l'ovulation. Néanmoins, à l'état habituel il existe des facilitations ou des gênes de l'ovulation suivant l'état de vigilance et nous avons constaté que la répartition des états de vigilance (hyperéveil, éveil olfacto-sexuel, sommeil lent et sommeil paradoxal) peut influencer la réussite de l'ovulation et surtout l'achèvement de la gravidité, c'est-à-dire influencer le succès ou l'échec de la Reproduction (FAURE et col., 1969). Il est possible que la vigilance participe de façon relativement active au même titre que l'environnement sensoriel à l'intégration nerveuse impliquée dans la régulation gonadotrope (FAURE, 1965, 1968 a et b), (SOULAIRAC et SOULAIRAC, 1969). Il est cependant évident que des modifications de la vigilance accompagnent les libérations hormonales gonadiques et hypophysaires et le fait que les monoamines soient impliquées dans les deux types de mécanismes n'est peut-être pas étranger à ces corrélations.

Quatrième partie

ETUDE DE L'ACTIVITE UNITAIRE HYPOTHALAMIQUE ET DE SES VARIATIONS AU COURS DE LA REGULATION GONADOTROPE

I. - Activité unitaire hypothalamique spontanée et niveaux de vigilance

II.- Activité unitaire et ovulation réflexe

III. - Rétro-actions d'origine hypophysaire (feed-back courts)

IV. - Rétro-actions stéroïdiennes (feed-back longs)

I. ACTIVITE UNITAIRE HYPOTHALAMIQUE SPONTANEE ET NIVEAUX DE VIGILANCE.

L'étude de l'activité unitaire de l'hypothalamus a montré que les neurones de cette région étaient sensibles à une grande variété de stimulations hormonales, sensorielles et plus généralement comportementales. Il est donc nécessaire de prendre les plus grandes précautions dans l'interprétation des modifications de l'activité unitaire hypothalamique consécutives à une stimulation quelconque. En effet, on sait depuis quelques années, que toute modification de la vigilance, toute modification de l'E.E.G. s'accompagnent de modifications importantes de la fréquence des décharges d'un grand nombre de neurones, (CROSS and SILVER, 1966) ; or des modifications de la vigilance ont précisément été observées par de nombreux auteurs au cours d'évènement spontanés ou expérimentaux intéressant la régulation neuro-endocrinienne chez le Rat au cours du cycle (COLVIN et col., 1968), chez le Lapin (FAURE, 1966), (FAURE, BENSCH, 1962), (FAURE, 1968), au cours d'interventions expérimentales retentissant sur les sécrétions hormonales (BARBE et al., 1969), après castration, injection ou implants hormonaux (FAURE, 1964), (SAWYER, 1966), (COLVIN et al., 1969), (BRANCHEY et al., 1971) après hypophysectomie (SPIES et al., 1970).

Ces constatations posent donc l'étude de la sensibilité des neurones hypothalamiques à la vigilance comme

préalable à toute exploration micro-électrophysiologique neuro-endocrinienne.

L'activité unitaire a été étudiée pendant l'éveil et le sommeil lent sur 122 cellules hypothalamiques. L'activité spontanée d'une cellule étudiée sous un comportement bien défini d'éveil (EV) de sommeil lent (SL) ou de sommeil paradoxal (SP) est caractérisée par la moyenne et la variance de la fréquence des décharges. Les éventuelles modifications de la réponse cellulaire à des variations de la vigilance sont ensuite testées par la méthode de STUDENT. Trois classes ont ainsi pu être définies (1) diminution de la fréquence moyenne des décharges au cours du passage EV - SL ; (2) augmentation de la fréquence moyenne au cours du passage ; (3) absence de modifications. Les résultats obtenus sont résumés dans le tableau III et quelques exemples sont représentés sur la figure (16).

Ces résultats ne sont pas trés différents de ceux de VINCENT et al. (1970) et de FINDLAY et HAYWARD (1969) bien que pour ces derniers auteurs la proportion de cellules indifférentes à la vigilance soit un peu plus forte(40%).

Ainsi en moyenne 72 % des cellules de l'hypothalamus sont sensibles aux variations de la vigilance et 48 % ont leur fréquence qui diminue sous SL ; un exemple typique de ce type de comportement est illustré par la figure (17) qui représente les modifications de l'activité d'un neurone de l'aire hypothalamique postérieure au cours des différents niveaux de vigilance, l'activité d'EV à 20/sec. diminue à 10 c/sec. pendant le sommeil lent

TABLEAU III

Localisation des cellules enregistrées et différents types de réponses observées au cours du passage Eveil - Sommeil lent -(1) diminution de la fréquence,(2)augmentation , (3)absence de modification

E - SL	(1)	(2)	(3)
A H A	13 (42 %)	14 (45 %)	4 (13 %)
V M H	10 (50 %)	4 (20 %)	6 (30 %)
D H A	23 (66 %)	5 (14 %)	7 (20 %)
L H A	2 (25 %)	1 (12 %)	5 (63 %)
S M A	5 (72 %)	1 (14 %)	1 (14 %)
P M A	2 (22 %)	1 (11 %)	6 (67 %)
P H A	4 (33 %)	3 (25 %)	5 (42 %)
Total	59 (48 %)	29 (24 %)	34 (28 %)

80 % des cellules étudiées dans l'hypothalamus ont une fréquence de décharge qui augmente avec le sommeil paradoxal mais cette activité est souvent trés variable entre le début et la fin de la phase paradoxale. Dans l'aire prémamillaire la majorité des neurones étudiés ne sont pas sensibles ou peu sensibles à la vigilance ; l'activité d'un tel type de neurone est illustré par la figure (18) ; deux microélectrodes ont été utilisées, elles ont enregistré simultanément l'activité d'un neurone thalamique et d'un neurone prémamillaire au cours d'une phase d'EV et d'une phase de SL. Les modifications de la vigilance qui entraînent une modification de la fréquence et du type de la décharge (bouffées pendant SL) du neurone thalamique n'affectent pas l'activité du neurone de l'aire prémamillaire.

Le manque d'homogénéité de l'hypothalamus du point de vue anatomique et cytologique se retrouve au niveau physiologique. La diversité des modifications de l'activité neuronale même pour des neurones adjacents montre la limitation des techniques actuelles : d'une part les techniques de mesure de l'activité de masse (E.E.G., potentiels évoqués, activité multi-unitaire) où les modifications individuelles échapperont à l'expérimentateur, d'autre part les techniques de mesures individuelles (activité unitaire) qui favorisent l'échantillonage au profit des grosses cellules plus facilement accessibles et ne peuvent donner que le comportement d'une population trés réduite où l'extra-polation est dangereuse.

L'hypothalamus ne semble pas être la région de commande des états de vigilance ; elle a été décrite beaucoup plus postérieure par JOUVET (1967) ; ainsi les modifications de l'activité spontanée observées au cours des différents niveaux de vigilance semble être plus le résultat que la cause des modifications de la vigilance (FINDLAY et HAYWARD, 1971). Les relations entre vigilance et régulation neuro-endocrinienne sont de même ordre. Si des modifications de l'E.E.G., et par conséquent de l'activité unitaire hypothalamique, observées à la suite d'un évènement endocrinien sont incontestables (CROSS and SILVER, 1966), (SAWYER, 1967), (FAURE et al., 1969) on en n'explique pas toujours les mécanismes profonds.

De nombreux auteurs ont mis en évidence une action directe des hormones sur les neurones (FAURE et al., 1969), (BARRACLOUGH and CROSS, 1963) mais la possibilité d'un effet indirect a été suggérée par ALBE-FESSARD et al. (1953), BAUST et al. (1963). Les modifications de la vigilance ont alors été attribuées à une modification de la pression artérielle : BONVALLET, DELL et HIEBEL (1953, 1954) travaillant sur le Chien provoquèrent une synchronisation de l'E.E.G. par augmentation de la pression exercée sur les sinus carotidiens. Ainsi la progestérone qui à forte dose induit un E.E.G. de sommeil lent chez le Rat, (KOBAYASHI et al., 1962) s'est avérée être chez cette espèce un agent hypertenseur (CESSION et al., 1966).

Ces constatations ont amené KOMISARUCK et al. (1967), RAMIREZ et al. (1967) à attribuer les modifications de l'activité unitaire qu'ils avaient observées après injection de progestérone chez le Rat à la synchronisation de l'E.E.G.entraînée par l'hormone. FAURE et al. (1969) rapportent également des variations non spécifiques de l'activité neuronale hypothalamique à la suite d'injections d'oestrogènes. Bien que certaines modifications de l'activité neuronale puissent être dues à un effet secondaire par l'intermédiaire des modifications de la pression sanguine (BEYER et al., 1967) ou à une action dépressive générale sur les neurones centraux, il n'est pas possible d'exclure l'éventualité d'une action spécifique et indépendante des hormones sur certains neurones hypothalamiques. La question ne peut être résolue que si la sensibilité du neurone aux variations de la vigilance a été testée au préalable. Dès lors, il est inutile d'insister sur la nécessité d'un enregistrement polygraphique permettant de recueillir simultanément l'activité unitaire, l'E.E.G. et la pression artérielle. La méthode d'enregistrement polygraphique chez l'animal libre, non anesthésié est évidemment la meilleure dans la mesure où elle élimine l'anesthésie qui perturbe les fonctions endocriniennes.

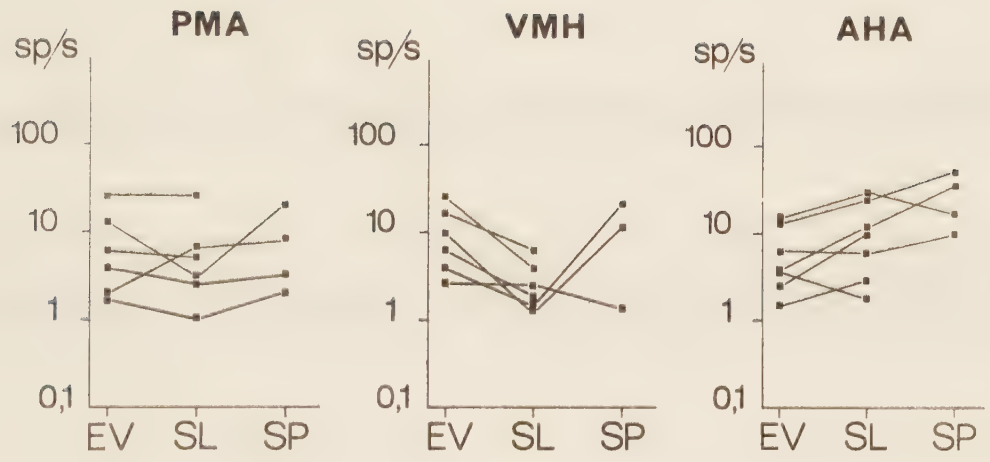


Figure 16.

Activité moyenne de quelques neurones hypothalamiques au cours des différents niveaux de vigilance.

PMA : aire prémamillaire - VMH : hypothalamus ventro-médian -

AHA : aire hypothalamique antérieure.

On remarquera que les neurones de l'aire prémamillaire sont généralement moins sensibles à la vigilance que ceux du noyaux ventro-médian.

Figure 17.

Type de décharge d'un neurone de l'aire hypothalamique postérieure sous différents niveaux de vigilance.

1. EV - 2. SL - 3. PPS

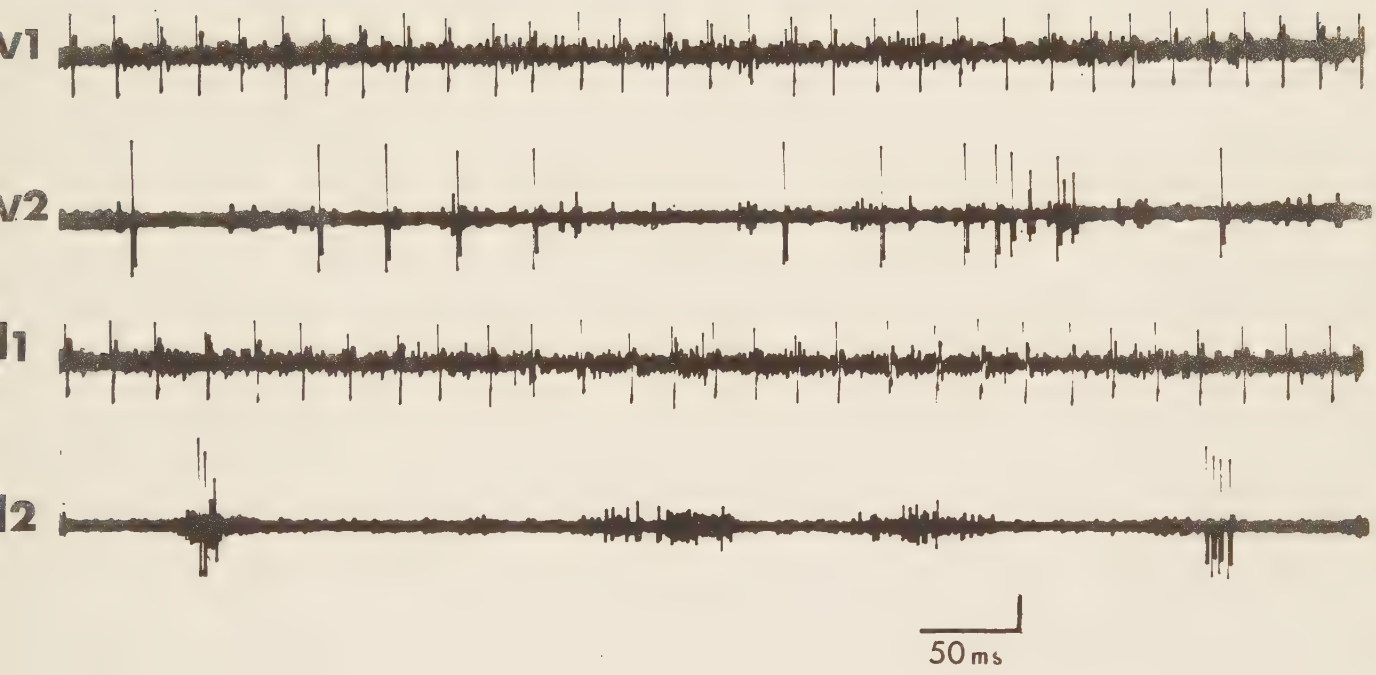


Figure 18.

Type de décharge d'un neurone de l'aire prémamillaire (1) pendant une phase d'Eveil (EV 1) et pendant une phase de Sommeil Lent (SL) et d'un neurone thalamique (2) pendant la même phase d'Eveil (EV 2) et la même phase de sommeil (SL 2), 2 microélectrodes ayant été utilisées simultanément.

On remarquera que des modifications de la vigilance qui affectent la fréquence et le type de décharge du neurone thalamique n'ont aucune incidence sur le neurone de l'aire prémamillaire.

II. ACTIVITE UNITAIRE ET OVULATION REFLEXE.

1. Rapprochement sexuel normal
2. Stimulation vaginale
   a) stimulation vaginale efficace
   b) stimulation vaginale inefficace
3. Activité neuronale hypothalamique et spécificité du modèle
   a) stimulations électriques cutanées sonores et visuelles
   b) stimulation vaginale et mise en jeu de l'axe hypothalamo-post-hypophysaire
4. Stimulations vaginales effectuées chez des animaux hypophysectomisés et ovariectomisés
5. Résumé.

L'hypothalamus joue un rôle majeur dans l'intégration d'afférences diverses d'origines somatiques, viscérales, centrales ou périphériques (STUART et al., 1963) ; afin d'éliminer le plus possible le retentissement des afférences sensorielles sur l'activité hypothalamique lors de l'étude de la mise en jeu des mécanismes neuro-endocriniens de

l'ovulation nous avons proposé de remplacer le coït par une stimulation vaginale mécanique. L'expérience montre cependant que la stimulation vaginale est moins efficace que le coït naturel. Cette différence de qualité du stimulus peut se manifester par une réponse hypothalamique quelque peu différente. Il apparaît donc nécessaire d'étudier les modifications hypothalamiques entraînées par le rapprochement sexuel normal afin de s'assurer que la stimulation vaginale constitue un modèle expérimental valable dans l'étude des mécanismes physiologiques de l'ovulation.

Enfin, les modifications observées après coït ou SV pouvant provenir d'origine diverses, il était nécessaire d'étudier le retentissement au niveau hypothalamique de quelques stimulations sensorielles et de s'affranchir des modifications de l'activité unitaire susceptibles de correspondre à la mise en jeu de l'axe hypothalamo-post-hypophysaire.

1. Rapprochement sexuel normal.

Les variations de l'activité unitaire ayant été suivies lors des différents niveaux de vigilance, un mâle est introduit dans la cage. 4 neurones seulement ont pu être ainsi étudiés avant et après l'accouplement. La vérification des ovaires a montré dans les 4 cas des traces trés nettes de rupture folliculaire (ovulation).

Le premier neurone était situé dans l'hypothalamus antérieur : plan A 17, profondeur 6, latéralité 1. Il était donc situé à la partie dorso-médiane du noyau hypothalamique antérieur. L'activité unitaire était peu sensible au niveau

de vigilance ; l'accouplement était suivi par une inhibition d'une quinzaine de minutes (fig. 19).

Le deuxième était situé dans l'hypothalamus médian plan A 14, profondeur 1, latéralité 1, à la partie dorso-latérale du noyau arqué. A l'état normal cette région est trés peu active ; immédiatement après l'accouplement, l'activité augmente, se maintient à un certain niveau (10 sp/sec.) pendant une quinzaine de minutes et augmente encore par la suite pour atteindre un maximum entre la 20è et la 40èminute (fig. 20).

Les troisième et quatrième neurones étaient situés au-dessous du Fornix, à la partie dorsale de l'aire hypothalamique latérale, plan A 15, profondeur 3, latéralité 1.5, et dans l'aire hypothalamique latérale, plan A 15, profondeur 2, latéralité 1.5. Ils n'ont pas montré de modification significative à la suite de l'accouplement.

La parade sexuelle du Lapin n'a pas permis une étude plus poussée des modifications de l'activité unitaire observées dans l'hypothalamus à la suite du rapprochement sexuel normal. Lors de ce type d'expérience, le mâle sectionne couramment les fils d'enregistrement, et l'agitation des deux partenaires est telle qu'il est extrêmement rare de conserver les cellules. La stimulation vaginale, réalisée dans les conditions décrites précédemment, permet une étude plus facile.

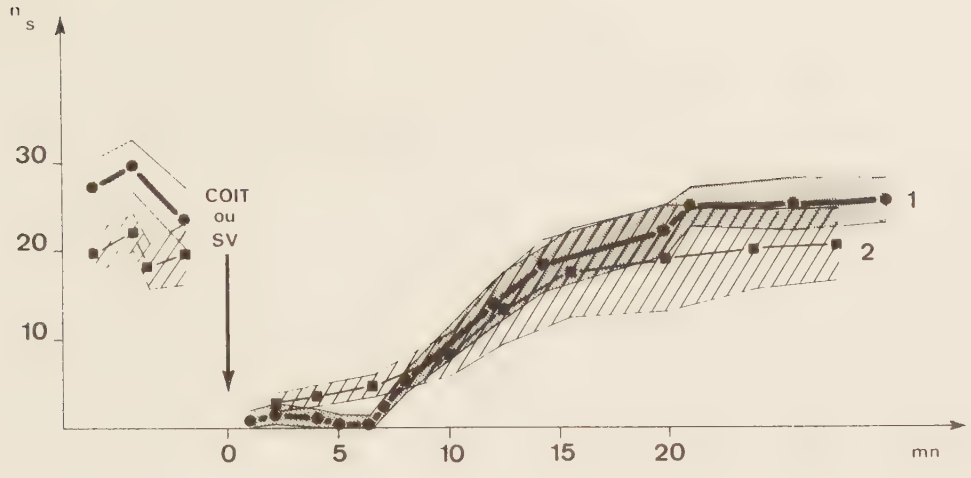


Figure 19.

Comparaison des effets du coït (1) et de la SV efficace (2) sur deux neurones de l'aire hypothalamique antérieure.

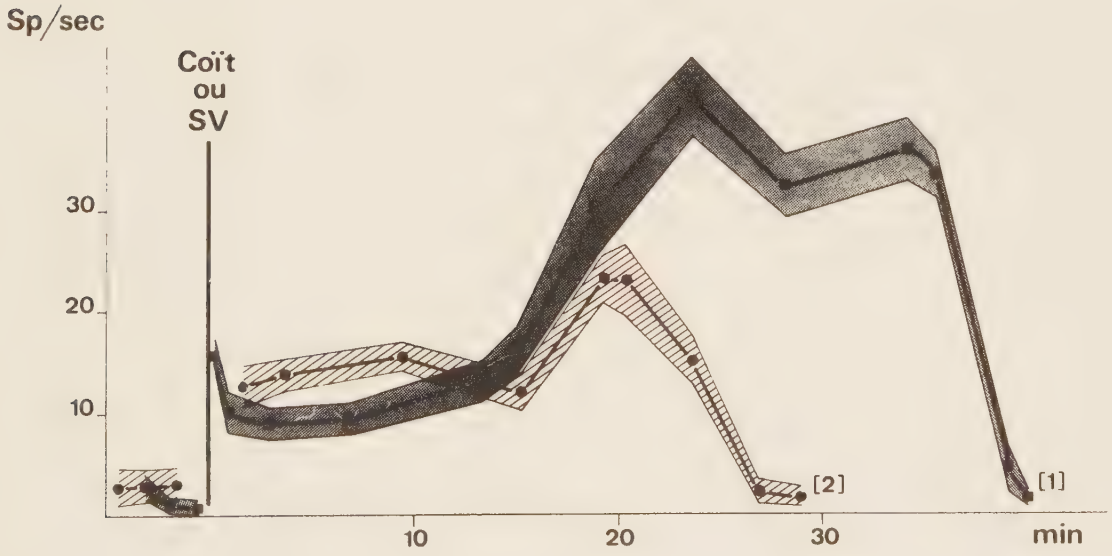


Figure 20.

Comparaison des effets du coït (1) et de la SV efficace (2) sur deux neurones du noyau arqué.

2. La stimulation vaginale.

Elle n'est pas toujours efficace ; nous avons appelé stimulation vaginale efficace ou positive une stimulation qui induit effectivement une ovulation et inefficace ou négative lorsque la laparotomie exploratrice effectuée 48 h après la stimulation ne révèle pas de traces de rupture folliculaire.

a) Stimulation vaginale efficace.

Sur 125 cellules testées avant et après stimulation vaginale, 33 stimulations seulement ont été suivies d'ovulation ; leur répartition est indiquée par le tableau (IV) et leur localisation précisée sur la figure (21).

Hypothalamus antérieur.

26 neurones ont été étudiés dans l'hypothalamus antérieur ; la stimulation vaginale a été efficace dans 7 cas et 5 neurones ont répondu à cette stimulation par une modification spécifique de leur activité. Le type de réponse, identique à celui observé après coït (fig. 19), est une inhibition brutale de l'activité, la fréquence de décharge remonte ensuite lentement et atteint le niveau initial vers la 15è minute après la SV.

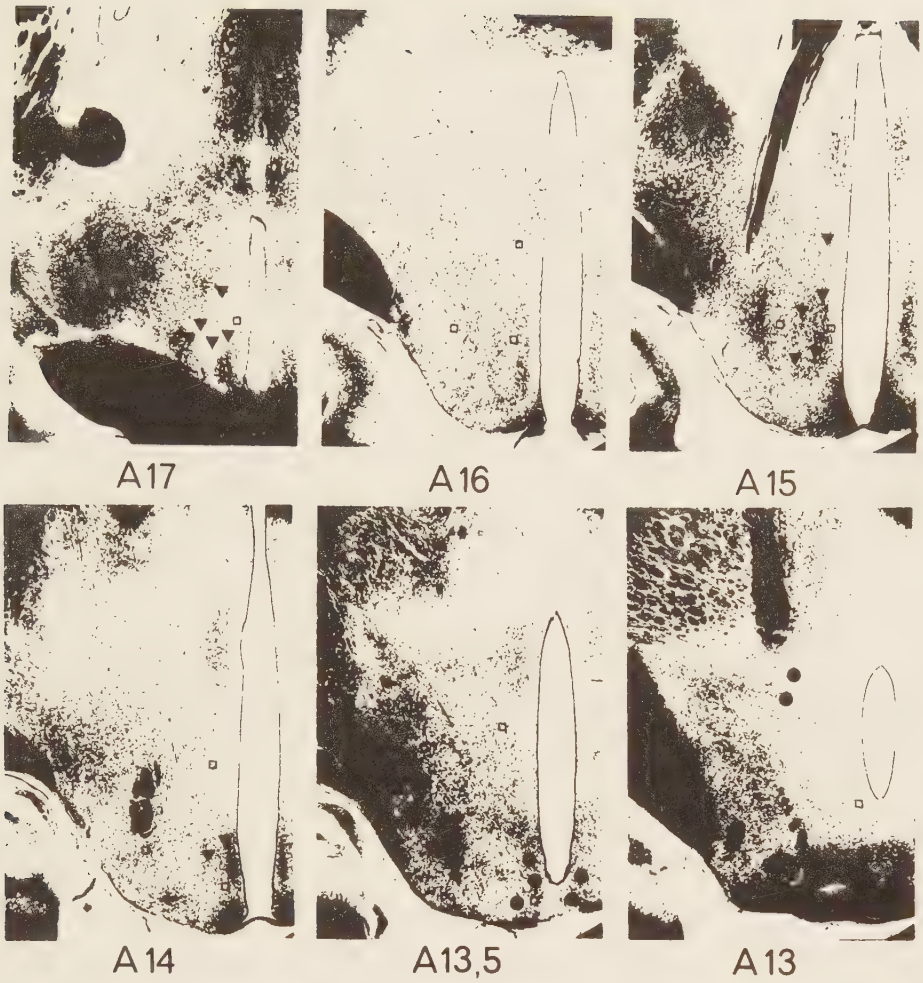


Figure 21.

Localisation des cellules enregistrées avant et après une stimulation vaginale efficace.

▼ diminution de l'activité

● augmentation

□ absence de réactivité

TABLEAU IV

Localisation des cellules enregistrées avant et après SV et nombre des réponses neuronales spécifiques

Localisation	Nombre de cellules testées	Réponse à la stimulation vaginale	
		Ovulation	Réponse neuronale spécifique
A H A	2	1	1
M P O	21	5	4
S C H	3	1	0
H V M	27	9	6
H D M	9	3	1
A H L	16	2	0
A S M	18	1	0
A H P L D	12	2	2
A P M	12	8	6
autres	5	1	0
TOTAL	125	33	20

AHA : aire hypothalamique antérieure - MPO : noyau préoptique médian - SCH : noyau supra-chiasmatique - HVM : hypothalamus ventro-médian - HDM : hypothalamus dorso-médian - AHL : aire hypothalamique latérale - ASM : aire supra-mamillaire, AHPLD : aire hypothalamique postéro-latéro-dorsale, - APM : aire pré-mamillaire.

Hypothalamus médian.

L'étude de cette région a porté sur 52 neurones situés principalement dans les noyaux ventro- et dorso-médian et dans l'aire hypothalamique latérale ; 14 stimulations ont été efficaces ; 7 neurones dont 6 sont situés dans le noyau ventro-médian et un dans le noyau dorso-médian ont répondu à la stimulation par une inhibition de leur activité comparable à celle observée dans l'hypothalamus antérieur (fig.19).

Un neurone situé dans le noyau arqué a répondu à la stimulation par une augmentation de son activité du type de celle observée après coït dans la même région. On remarquera cependant que la réponse est plus faible (fig. 20).

Hypothalamus postérieur.

42 neurones ont été étudiés dans l'hypothalamus postérieur, 11 ovulations ont été observées. La stimulation a entraîné l'augmentation de la fréquence de décharges de 6 neurones de l'aire prémamillaire et de 2 neurones de l'aire hypothalamique latéro-dorsale postérieure (fig. 22). Ces modifications sont du type de celles rencontrées dans le noyau arqué.

b) Stimulation vaginale inefficace.

La stimulation vaginale inefficace s'accompagne rarement d'une réponse spécifique ; les seules réponses observées

l'ont été dans l'hypothalamus antérieur et ventro-médian.

Deux neurones de l'aire préoptique médiane ont montré une diminution progressive de leur fréquence de décharge.

Dans l'hypothalamus ventro-médian, la stimulation vaginale inefficace s'accompagne dans 12 cas sur 16 d'une diminution brutale de l'activité identique à celle observée après stimulation efficace mais suivie d'une remontée beaucoup plus rapide qui dépasse parfois nettement le niveau de base. L'activité des neurones du noyau arqué de l'aire prémamillaire et de l'hypothalamus postérieur n'est pas ou très peu modifiée par la stimulation vaginale inefficace.

On peut s'interroger devant une stimulation vaginale sur la spécificité d'un tel stimulus. Cette interrogation concerne aussi bien le stimulus que la réponse. Autrement dit, le stimulus vaginal est-il seul à agir ? Ou bien des stimuli associés inévitables, tactile ou visuel, par exemple, ont-ils un rôle satellite. De même, la réponse endocrinienne au stimulus vaginal consiste-t-elle uniquement en une mise en jeu du système hypothalamo-antéhypophysaire ou d'autres systèmes hypothalamiques ne peuvent-ils également être activés ?(Le système hypothalamo-post-hypophysaire par exemple).Nous allons examiner successivement ces deux aspects.

3. Activité neuronale hypothalamique et spécificité du modèle.

L'extrême sensibilité des neurones hypothalamiques à différents stimuli rend difficile l'interprétation des modifications observées à la suite d'une stimulation définie. Ainsi, des stimulations lumineuses, auditives, ou tactiles sont susceptibles de modifier l'activité d'un grand nombre de neurones hypothalamiques (CROSS et GREEN, 1959), (STUART et al., 1963), (DAFNY et al., 1965), (FELDMAN et DAFNY, 1968), (DAFNY et al., 1970).

a) Stimulations électriques cutanées, sonores et visuelles.

Un stimulateur de marque RACIA délivrant une onde carrée de tension et de largeur réglables a permis d'effectuer des stimulations électriques cutanées (peau du cou), sonores (répétitives ou continues) et visuelles (flash lumineux), 11 neurones ont été étudiés.

Dans l'hypothalamus postérieur les 2 neurones étudiés ont répondu aux stimulations électriques cutanées et aux stimulations sonores par une brève augmentation de leur activité pendant la durée de la stimulation ; il n'ont pas répondu à la stimulation visuelle.

Dans l'hypothalamus médian, 3 neurones sur 5 situés dans le noyau ventro-médian ont répondu par une augmentation

de leur activité pendant la stimulation électrique et la stimulation sonore ; ils n'ont pas répondu à la stimulation visuelle.

Des 4 neurones enregistrés dans l'aire hypothalamique latérale aucune des modifications observées n'a pu être attribuée à la stimulation ; elles étaient en effet, contemporaines d'un état d'alerte entraînant les mêmes modifications.

Dans tous les cas observés, les modifications étaient directement induites par la stimulation ou par les variations de la vigilance entraînées par la stimulation ; aucune d'entre-elles n'a montré de modification spécifique de l'activité unitaire après l'arrêt de la stimulation.

b) Stimulation vaginale et mise en jeu de l'axe hypothalamo-post-hypophysaire.

La succion ou la stimulation mécanique des glandes mammaires peut entraîner chez la Lapine une libération post-hypophysaire qui comprend principalement de l'ocytocine, mais aussi un peu de vasopressine, (CROSS, 1954), (YOKOYAMA,1956).

4 neurones dont 2 étaient situés à la partie latérale du noyau paraventriculaire (plan A 15,5) et 2 dans l'aire préoptique médiane (plan A 16) ont été étudiés après stimulation mécanique des glandes mammaires ; celle-ci a été suivie par une inhibition assez prononcée de l'activité dans 2 cas sur 4 et une légère augmentation dans les 2 autres cas (Fig. 23).

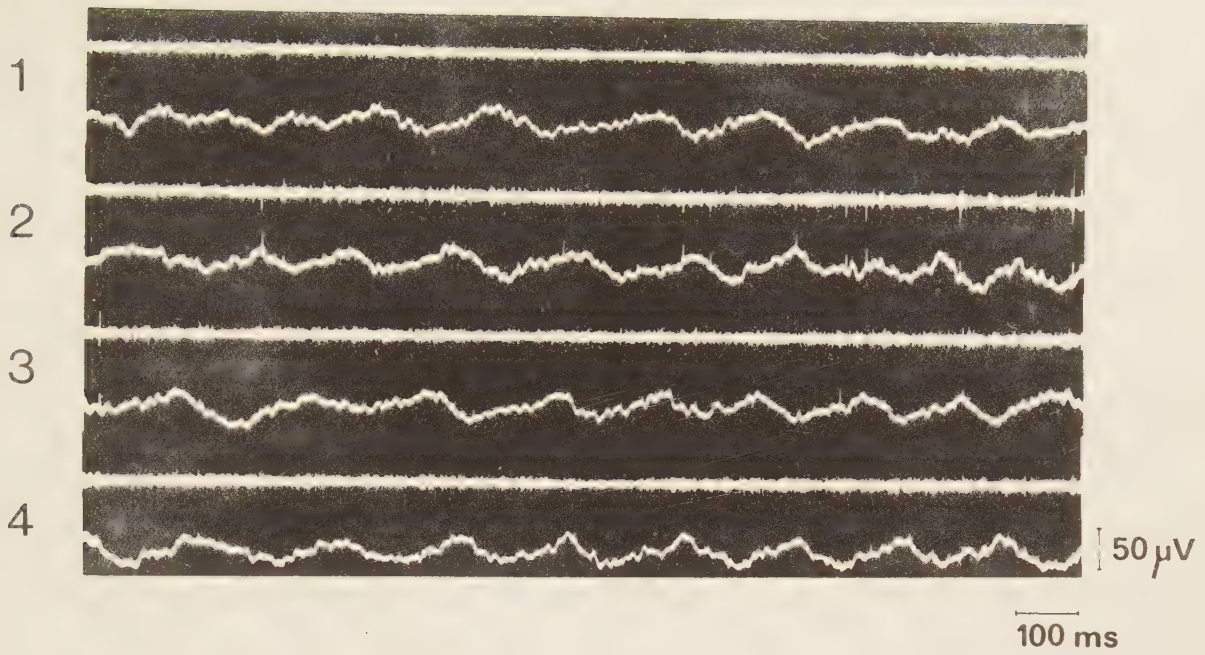


Figure 22.

Modification de l'activité électrique de l'hypothalamus postérieur avant (1) et après SV efficace - (2) : 20 minutes après, (3) : 25 minutes, (4) 30 min.

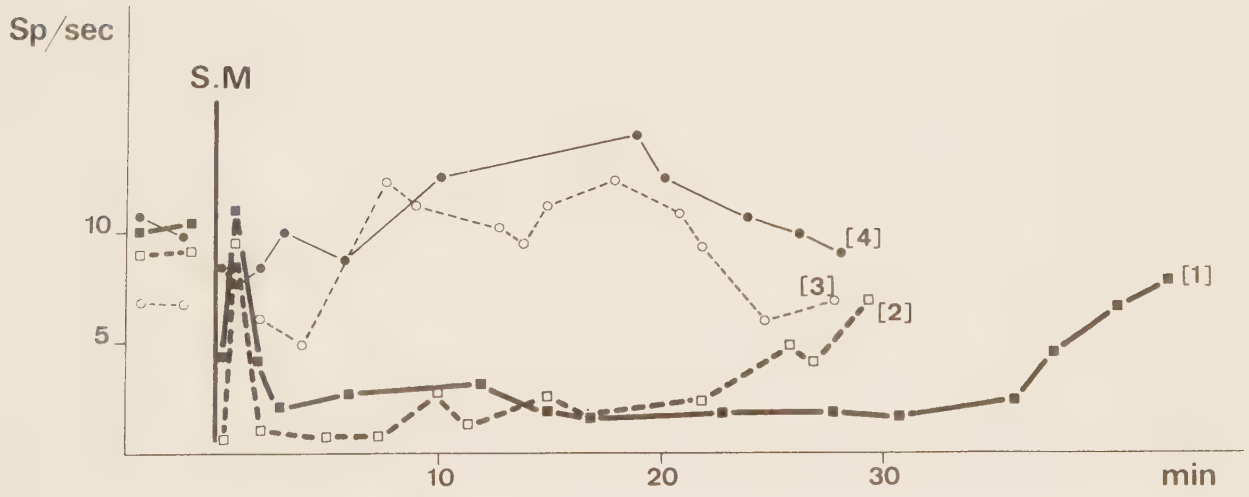


Figure 23.

Modification de l'activité unitaire de 4 neurones de l'hypothalamus antérieur à la suite de stimulation mécanique des mamelons (SM).
(1) - (3) : aire préoptique médian ; (2) - (4) : paraventriculaire.

3 neurones ont été étudiés dans le complexe VMH-DMH, et 1 dans l'aire prémamillaire ; la stimulation n'a entraîné qu'une très légère augmentation non significative de l'activité.

La possibilité d'un feed-back de l'ocytocine libérée par la stimulation vaginale a également été examinée - 3 neurones de l'hypothalamus antérieur ont montré une augmentation rapide et brève de leur fréquence de décharge à la suite d'une injection d'ocytocine (0.3 U). L'hypothalamus ventro-médian est peu ou pas du tout sensible à l'injection. Ces résultats sont tout à fait comparables à ceux de CROSS et DYER (1970) qui n'observent pas d'effet de l'ocytocine sur l'activité neuronale d'îlots hypothalamiques.

4. Stimulations vaginales effectuées chez des animaux hypophysectomisés et ovariectomisés.

Les modifications de l'activité unitaire observées après SV ou coït dans le noyau ventro-médian et l'aire prémamillaire (FAURE et al., 1967, 1968), (VINCENT et al.,1970) ont pu être attribuées spécifiquement à la mise en jeu de l'axe hypothalamo-antéhypophysaire car elles se différentiaient des modifications neuronales apportées par les variations de la vigilance ou corrélées à divers comportement.

Afin de déterminer les parts respectives des variations induites par les mécanismes nerveux directs et par les feed-backs indirects des hormones, des stimulations vaginales ont été réalisées chez des animaux hypophysectomisés et ovariectomisés, sur 17 cellules testées, dont les localisations sont indiquées sur le tableau V,6 ont répondu spécifiquement à la SV.

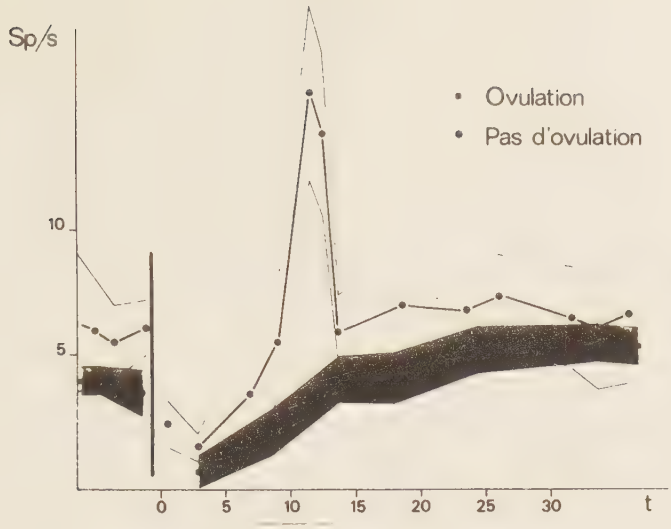


Figure 23 bis

Comparaison des effets de la stimulation coïtale sur deux neurones de l'hypothalamus ventro-médian, suivant que cette stimulation est efficace et entraîne une ovulation (■) ou qu'elle est inefficace (✱).

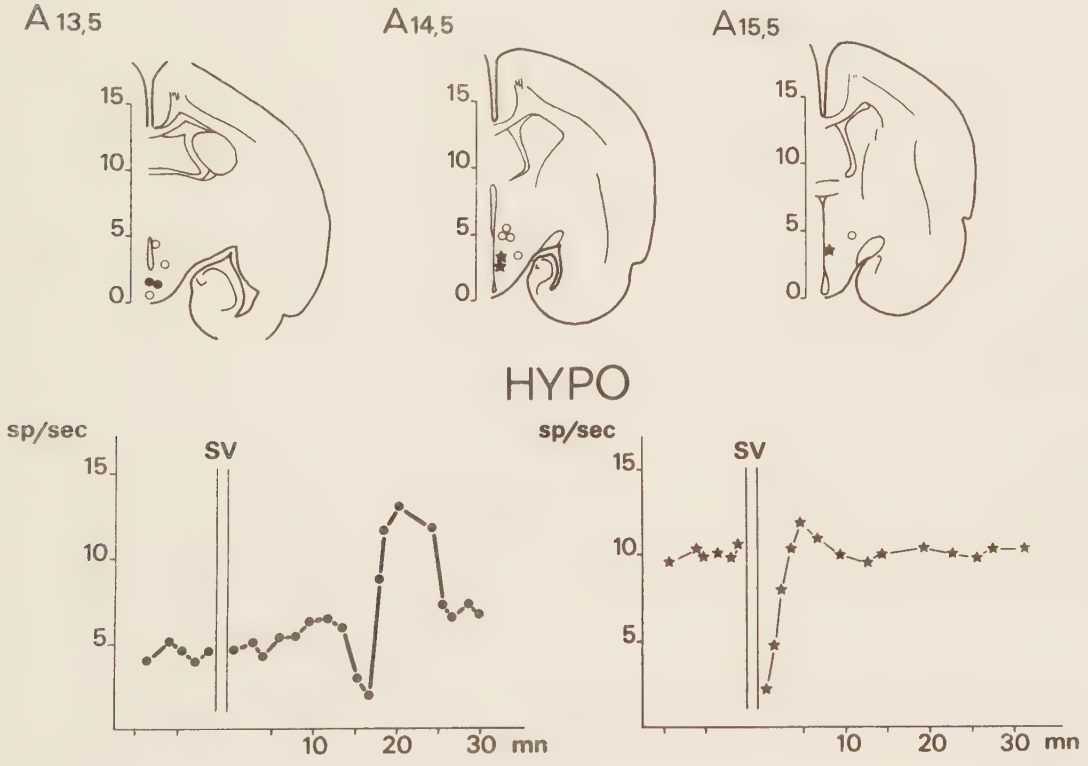


Figure 24.

Stimulation vaginale effectuée chez des animaux hypophysectomisés et ovariectomisés. - A gauche dans l'aire prémamillaire. - A droite dans le noyau ventro-médian.

TABLEAU 5

Localisation des cellules testées après SV chez des animaux hypox-ovx

Localisation	Nombre des cellules testées	Réponses spécifiques
M P O	2	-
V M H	5	3
L H A	2	-
D M H	1	-
P M A	4	3
autres	3	-

La stimulation vaginale a entraîné une inhibition brutale et brève de 3 cellules du noyau ventro-médian et une augmentation tardive de 3 cellules de l'aire prémamillaire (fig. 24).

Les autres neurones interrogés n'ont pas répondu à la stimulation.

5. Résumé.

Les expériences réalisées ont montré des modifications spécifiques de l'activité de certains neurones du noyau ventro-médian et de l'hypothalamus prémamillaire après SV entraînant l'ovulation ; ces modifications sont semblables à celles observées après rapprochement sexuel normal.

Dans le noyau ventro-médian, la stimulation vaginale réalisées chez l'animal hypophysectomisé et ovariectomisé s'accompagne d'une brève inhibition de l'activité unitaire ; il est donc vraisemblable que la réponse observée après SV chez l'animal intact comporte un effet direct nerveux et une rétroaction hormonale qui reste à déterminer, mais nous pouvons d'ores et déjà rejeter une éventuelle participation de l'ocytocine.

L'augmentation tardive observée dans l'hypothalamus prémamillaire et latéro-dorsal postérieur reste également à expliquer.

Dans l'hypothalamus antérieur, des modifications comparables se rencontrent après SV efficace, après SV non efficace et après stimulation des glandes mammaires ; elles peuvent donc être attribuées aussi bien à la mise en jeu de l'hypophyse antérieure qu'à celle de l'hypophyse postérieure.

III. RETRO-ACTIONS D'ORIGINE HYPOPHYSAIRE ET ACTIVITE UNITAIRE HYPOTHALAMIQUE.

1. Effet des injections systémiques de LH
2. Effet des injections systémiques de FSH
3. Effet des injections conjuguées de LH et FSH
4. Résumé

La comparaison des effets respectifs d'une injection hormonale et de la stimulation vaginale (SV) sur l'activité électrique des cellules, permet de reconnaître la part qui revient à d'éventuelles rétro-actions hormonales. Il est préférable d'effectuer l'injection de quantités proches des doses "physiologiques". En 1968, BROWN-GRANT et al. ont observé 4 h après le coït, une diminution de l'ordre de 50 µg du contenu hypophysaire en LH ; cette estimation ne donne pas une idée précise de la LH libérée car la mesure ne tient pas compte des quantités d'hormones synthétisées pendant cette période. Il est reconnu, également qu'une quantité d'hormone suffisante pour induire une ovulation est libérée pendant la première heure (FEE et PARKS, 1929) ; le taux plasmatique de LH est alors de 200 ng/ml (DUFY-BARBE et col., 1972), soit une quantité totale de 50 µg par animal. Des injections préalables de 50 µg de LH M_3 réalisées sur des Lapines non préparées sont capables d'induire une ovulation dans 100 % des cas.

1. Effet des injections systémiques de LH

Les injections ont été réalisées sur des animaux hypophysectomisés et ovariectomisés. Le tableau (VI) donne les localisations des neurones enregistrés et les réponses observées.

11 neurones ont été enregistrés dans l'hypothalamus antérieur. L'injection de 50/ug de LH a été suivie d'une brusque diminution de l'activité unitaire (5 min. environ) chez 6 d'entre-eux ; un neurone du noyau arqué antérieur a donné une réponse identique ; les 5 autres neurones n'ont pas présenté de réponse visible. Les modifications observées sont trés voisines de celles parfois obtenues avec le solvant seul (chute brutale de 1 à 2 min.) et rendent discutables la spécificité de l'effet hormonal.

19 neurones ont été étudiés dans l'hypothalamus médian ; 7 neurones, situés dans le noyau ventro-médian et à la partie basale du noyau dorso-médian, ont présenté une diminution progressive de leur fréquence de décharge 1 à 2 min. après l'injection de LH. Cette diminution a duré de 15 à 30 min. (fig. 25), (fig. 26).

L'essai de différentes doses (25/ug, 50/ug, 100/ug) n'a pas permis de mettre en évidence de relation significative dose-réponse. Par contre, l'injection consécutive de deux doses égales est suivie d'effets différents, la seconde dose provoquant une inhibition plus durable que la première.

9 neurones ont été étudiés dans l'hypothalamus postérieur ; 4 neurones appartenant à l'aire prémamillaire

et à la partie postérieure du noyau arqué (plan A 14) ont répondu à l'injection de LH par une forte augmentation de leur activité (fig. 26). Nous n'avons pas observé de réponse semblable dans l'hypothalamus supra-mamillaire.

2. Effet des injections systémiques de FSH

Nous n'avons que peu de renseignements sur la libération de FSH. Il n'a pas été possible de mettre en évidence, après le coït, une décharge de FSH comparable à la décharge de LH (DESJARDINS et al., 1967), (DUFY-BARBE et al., 1972), (fig. 2). Il est donc vraisemblable qu'au niveau des neurones hypothalamiques la réponse post-coïtale ne comprend pas de composantes "feed-back FSH".

Ce manque de renseignement rend également difficile la prévision d'une dose physiologique ; la dose de 50/ug (FSH - M_2) a été adoptée dans la majeure partie de l'expérimentation, elle correspond approximativement au double du taux normal de base. Les localisations des neurones enregistrés sont indiqués dans le tableau VII.

21 neurones ont été enregistrés avant et après injection de FSH. 2 seulement ont montré une réponse significative, (fig. 27) les localisations et le type de réponse obtenue sont précisés sur le tableau VII.

3. Effet des injections conjuguées de LH et FSH.

Des préparations contenant 50/ug de FSH et 5/ug ou 10/ug de LH se sont avérées plus efficaces que l'injection de l'une ou l'autre des deux hormones effectuées

TABLEAU 6

Effet de l'injection systémique de LH sur l'activité unitaire hypothalamique

Localisation	Nombre de cellules testées	Augmentation de la fréquence	Diminution de la fréquence	Absence de réactivité
A H A	1	-	-	1
M P O	6	-	3	3
S c h	4	-	3	1
H V M	8	-	5	3
H D M	6	-	2	4
A L H	5	-	-	5
A R C	2	1		1
A P M	7	4		3
A S M	2			2
autres	5		1	4
TOTAL	46	5	14	27

AHA : aire hypothalamique antérieure ; MPO : noyau préoptique médian
Sch : noyau suprachiasmatique ; HVM : hypothalamus ventro-médian ;
HDM : hypothalamus dorso-médian : ALH : aire hypothalamique latérale
ARC : partie antérieure du noyau arqué ; APM : aire prémamillaire ;
ASM : aire supra-mamillaire.

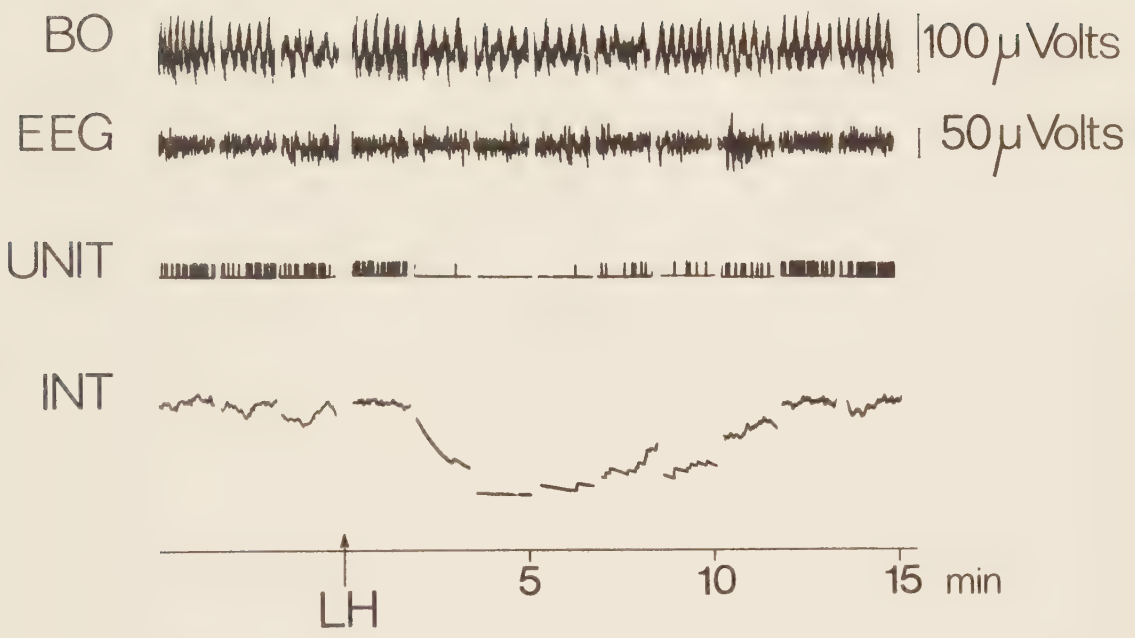


Figure 25.

Effet de l'injection systémique de 50 µg de LH sur l'activité d'un neurone du noyau ventro-médian. Des segments d'enregistrement de 3 sec. ont été extraits de l'enregistrement continu toutes les 1,5 min. et montés en séquences. - B.O. : bulbe olfactif - E.E.G. : électroencéphalogramme cortical. - UNIT : activité unitaire. - INT : intégration.

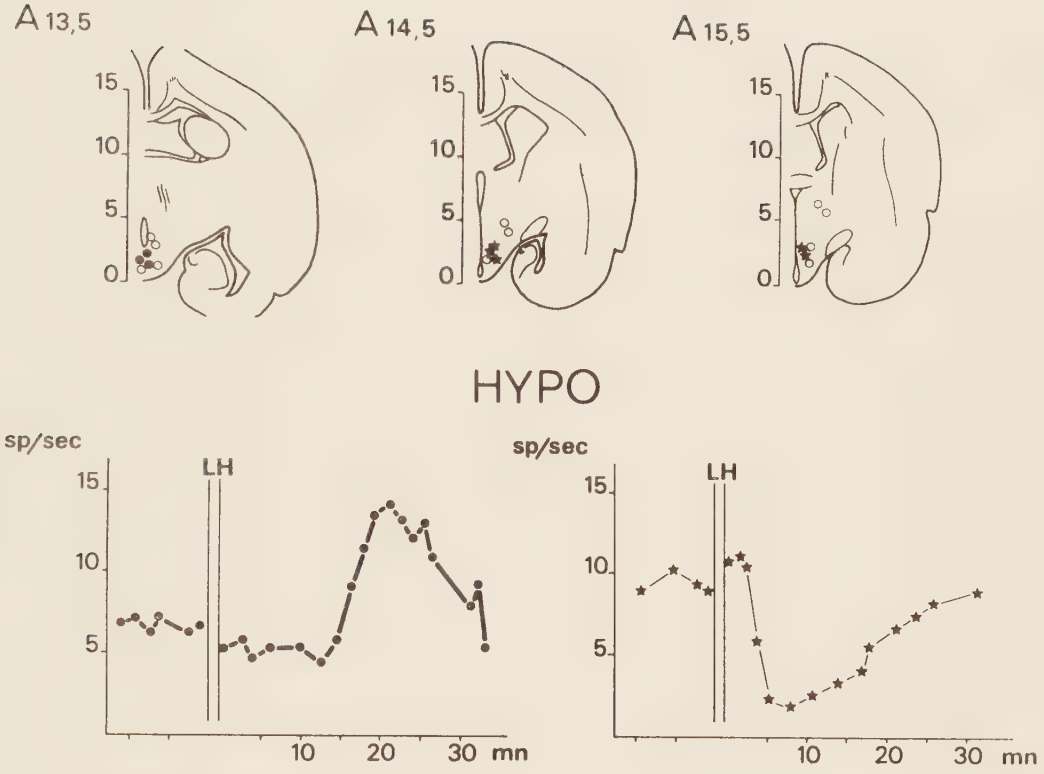


Figure 26.

Localisation anatomique et type de réponse des neurones étudiés après injection systémique de 50 µg de LH.

L'effet de la LH sur la fréquence est indiqué par : ● augmentation ★ diminution et O absence de réactivité.

séparément. La cellule 4 -17 -3 située dans l'hypothalamus antérieur a montré une diminution sensible de son activité pendant 50 min. à la suite d'une telle injection alors que la durée maximum du même phénomène n'a jamais dépassé 5 min. après injection de LH seul et que la FSH s'était avérée sans effet sur l'activité des neurones de cette région.

Effet de l'injection de 50/ug de FSH + 5/ug de LH sur l'activité unitaire de la cellule 4-17-3

	activité spontannée	Temps écoulé après l'injection en min. 5	10	20	30	40	50	60
fréquence moyenne	6.00	0.67	0.47	1.5	2.83	2.67	4.50	8.00
écart type	1.15	0.34	0.37	0.41	0.84	0.46	0.41	1.63

4. Résumé.

L'injection à dose physiologique de LH provoque des modifications notables de l'activité unitaire à l'intérieur des noyaux ventro-médian et prémamillaire. Ces variations son comparables, mais non superposables, à celles observées à la suite du coït ou de la Stimulation Vaginale efficace, d'où l'hypothèse d'une double composante nerveuse et hormonale dan la réponse globale.

Lorsque deux injections consécutives d'une même dose de LH sont effectuées sur la même cellule, la seconde est généralement plus efficace que la première ; mais les réponses spécifiques sont de plus en plus difficiles à évoque

TABLEAU 7

Effet de l'injection systémique de FSH sur l'activité unitaire hypothalamique

Localisation	Nombre des cellules testées	Augmentation de la fréquence	Diminution de la fréquence	Absence de réactivité
M P O	3	-	-	3
S C H	3	-	-	3
H V M	5		1	4
H D M	2			2
A H L	2			2
A P M	2	1		1
autres	4			4
TOTAL	21	1	1	19

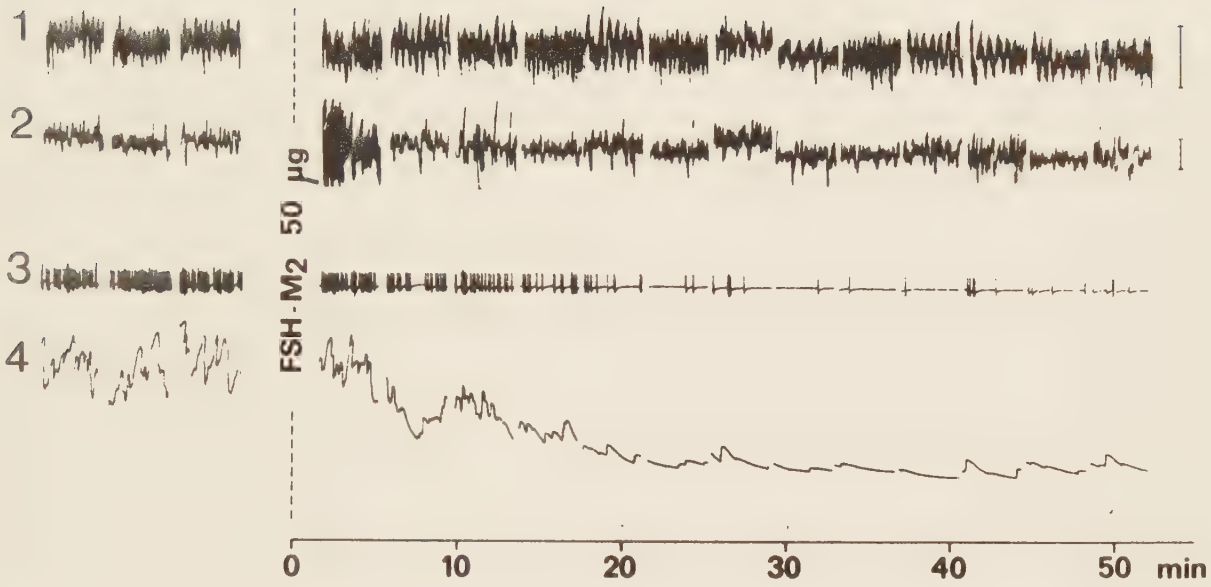


Figure 27.

Effet de l'injection systémique de 50 µg de FSH sur l'activité d'un neurone du noyau ventro-médian. Des segments d'enregistrement de 3 sec. ont été extraits de l'enregistrement continu toutes les 4 min. et montés en séquence .

1 : Bulbe Olfactif - 2 : Cortex

3 : Activité Unitaire - 4 : Intégration

lorsque l'on s'éloigne du jour de l'hypophysectomie. Ces constatations seront évoquées lors de l'étude des problèmes posés par l'existence et la nature des récepteurs hormonaux hypothalamiques.

L'injection de FSH entraîne peu de modifications spécifiques de l'activité unitaire ce qui rend improbable l'existence d'un feed-back court de la FSH ; mais l'association de la LH et de la FSH est plus efficace que l'une et l'autre des deux hormones injectées séparément, ou pourra rapprocher ces résultats de ceux obtenus lors de l'étude des modifications de la vigilance apportées par les injections hormonales.

IV. ACTIVITÉ UNITAIRE ET RETRO-ACTION STÉROÏDIENNE.

1. Problèmes techniques posés par l'injection des stéroïdes
   - a) le solvant
   - b) progestérone et pression artéartérielle
2. Effet des injections systémiques d'oestrogènes
3. Effet des injections systémiques de progestagènes : progestérone et 20 - OH
4. Données auto-radiographiques
   - a) protocole expérimental
   - b) fixation des oestrogènes
   - c) fixation de la progestérone

1. Problèmes techniques posés par l'injection de stéroïdes.

a) Le solvant

L'expérimentation a porté sur les effets de 3 composés oestrogéniques (le benzoate d'oestradiol, l'estradiol et le sulfate d'estrone) et de deux progestagènes (la progestérone et la 20 α - hydroxy-pregnen-4-en-3-one, ou 20 α - OH).

L'injection sous cutanée ou intra-péritonéale ne convient pas à nos conditions d'expériences, la réponse est en effet trop longue pour permettre l'étude de l'activité unitaire dont la durée est limitée à quelques dizaines de minutes ; seule l'injection systémique répond par contre à ces impératifs de temps. Les chromatographies en phase gazeuse de solutions saturées aqueuses de ces différents composés se sont révélées négatives, aucun d'entre-eux n'étant suffisamment soluble en milieux acqueux. Dès lors, il était nécessaire de trouver un solvant des hormones qui puisse être injecté par voie systémique ; le Labrafil, composé lipidique a été écarté car mal supporté par l'animal ; le propylène glycol par contre était assez bien toléré, mais, entraînait souvent à l'état pur des réponses non spécifiques; c'est une solution de 60 % en volume de propylène glycol pour 40 % d'eau distillée qui a donné les meilleurs résultats en pouvoir solvant et en tolérance.

b) Progestérone et pression artérielle.

Nous avons déjà rappelé les observations faites par de nombreux auteurs de l'effet indirect des hormones sur l'activité cérébrale liée à des modifications de la pression artérielle (KOMISARUK et al., 1967, RAMIREZ et al., 1967, BEYER et al., 1967). Dans certains cas, la progestérone s'avère être un agent hypertenseur efficace (CESSION et al., 1966) et pourraitprovoquer des modifications non spécifiques de l'activité unitaire.

Les enregistrements simultanés de la pression artérielle et de l'activité unitaire hypothalamique réalisés à la suite d'injections de 100 et 250 µg de Progestérone n'ont montré aucune modification de la pression artérielle comparable à celle obtenue par d'autres auteurs chez le Rat; nous nous sommes demandés si cette absence de réponse hypertensive chez le Lapin éveillé était due à la suppression d'un effet potentiateur de l'anesthésie ouà une différence de réactivité d'espèce, le Lapin se montrant par ailleurs à bien des égards différent du Rat.

5 animaux porteurs d'un cathéter intra-carotidien ont reçu des injections de différentes doses de progestérone, ces expériences ont été réalisées chez des animaux anesthésiés à l'uréthane, au nembutal, et chez des animaux éveillés. La progestérone n'entraîne une augmentation importante de la pression artérielle que chez les animaux anesthésiés et la durée de cette augmentation est en relation directe avec la

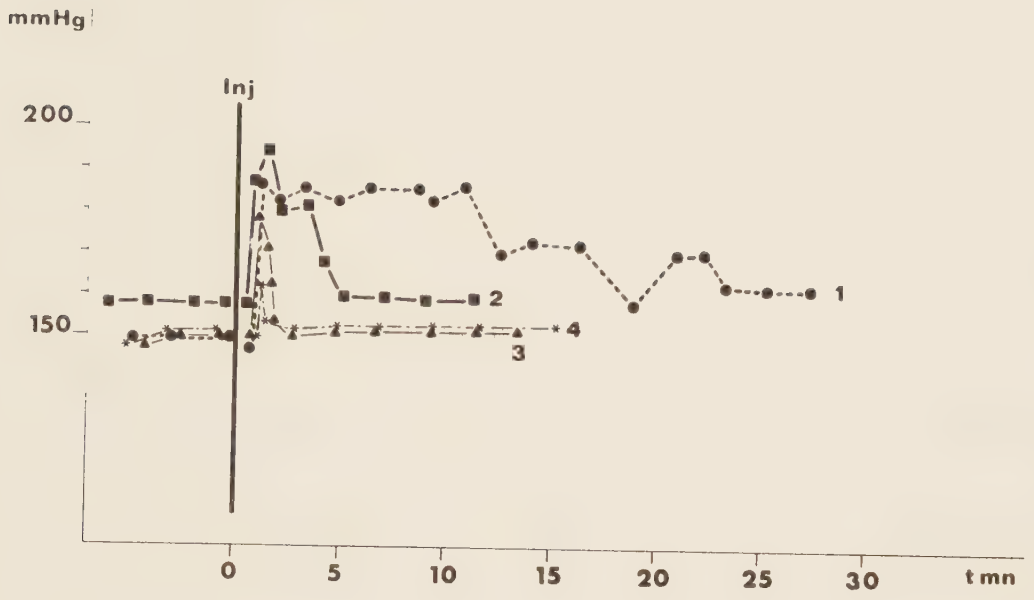


Figure 28.

Modification de la pression artérielle après injection de :

1 : 500/ug de progestérone dans du propylène glycol à 60 % sous anesthésie légère à l'uréthane.

2 : 250/ug de progestérone dans du propylène glycol à 60 % sous anesthésie légère à l'uréthane.

3 : 250/ug de progestérone dans du propylène glycol à 60 % chez l'animal éveillé.

4 : Propylène glycol à 60 % sous anesthésie légère à l'uréthane.

dose injectée (fig. 28). Par contre, les doses de 100 et 250 µg de progestérone n'ont pas entraîné l'augmentation durable de la pression artérielle chez les animaux éveillés. L'effet hypertenseur de la progestérone observé chez l'animal anesthésié paraît donc lié à un effet potentiateur de l'anesthésie et par là même l'absence d'effet chez l'animal non anesthésié, est une garantie supplémentaire de la spécificité des variations observées dans l'activité unitaire.

2. Effet des injections systémiques d'oestrogènes.

L'activité de 74 cellules hypothalamiques a été enregistrée après injection de 50 µg d'oestrogène. Le composé le plus souvent utilisé fut le benzoate d'oestradiol ; l'oestrone et l'estradiol ont donné des réponses comparables.

La localisation des différentes cellules enregistrées et le type de réponse observé sont indiqués sur le tableau (VIII).

Hypothalamus antérieur.

12 neurones ont été enregistrés dans l'hypothalamus antérieur. 5 neurones de l'aire hypothalamique antérieure et un neurone de l'aire préoptique médiane ont répondu à l'injection de 50 µg de benzoate d'oestradiol par une augmentation progressive de leur activité ; la latence varie

entre 2 et 5 min. et la durée de 20 à 30 min. pour les doses injectées (fig. 29).

Hypothalamus médian.

Dans l'hypothalamus médian, l'effet de l'injection n'est pas univoque. Sur 31 neurones enregistrés, 10 ont répondu à l'injection, dont 6 par une augmentation de leur fréquence, et 5 par une diminution. Les modifications observées dans l'hypothalamus latéral ne sont pas spécifiques et paraissent liées à l'état d'éveil induit par l'hormone.

Hypothalamus postérieur.

20 neurones ont été enregistrés dans l'hypothalamus postérieur. 6 d'entre-eux ont répondu à l'injection de 50 µg de benzoate d'oestradiol par une brève et brutale diminution de la fréquence de décharge (fig. 30). L'injection de la même dose par voie intra-carotidienne a entraîné une augmentation de la durée de la phase d'inhibition (90 min.). Les mêmes réponses ont été observées dans l'hypothalamus supra-mamillaire et dorso-latéral postérieur (fig. 31).

3. Effet des injections systémiques de progestagènes.

Cette expérimentation a porté sur 70 neurones ; l'effet de la progestérone a été étudiée sur 50 d'entre-eux

TABLEAU VIII

Action des oestrogènes sur l'activité unitaire hypothalamique

Localisation	Nombre de cellules testées	Augmentation de la fréquence	Diminution de la fréquence	Absence de réactivité
M P O	5	1	1	3
S c h	1	-	-	1
A H A	6	4		2
P M H	10	3	2	5
D M H	6	-	-	6
L H A	15	2	3	10
A R C	4	1	-	3
P M A	5	-	-	5
H P L D	9	-	6	3
S M A	6	-	4	2
autres	7	-	1	6
TOTAL	74	11	17	46

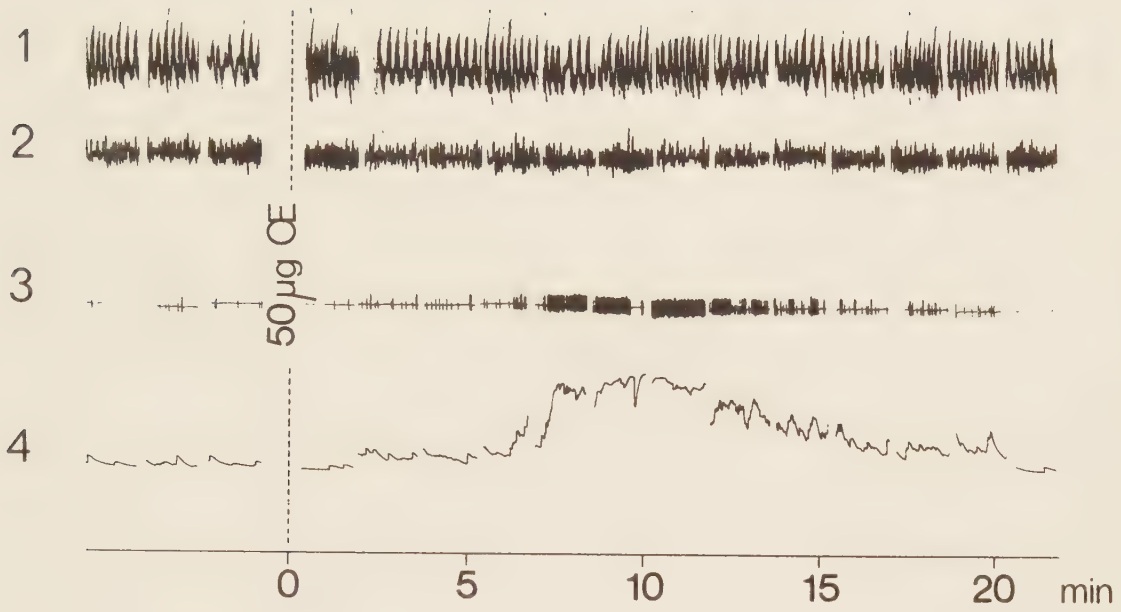


Figure 29.

Effet de 50/ug de benzoate d'oestradiol sur l'activité d'un neurone de l'aire hypothalamique antérieure (A.H.A.). Des segments de l'enregistrement de 3 sec. ont été extraits de l'enregistrement continu toutes les 15 min. et montés en séquence. - 1 : Bulbe Olfactif - 2 : Cortex - 3 : activité unitaire - 4 : intégration de l'activité unitaire.

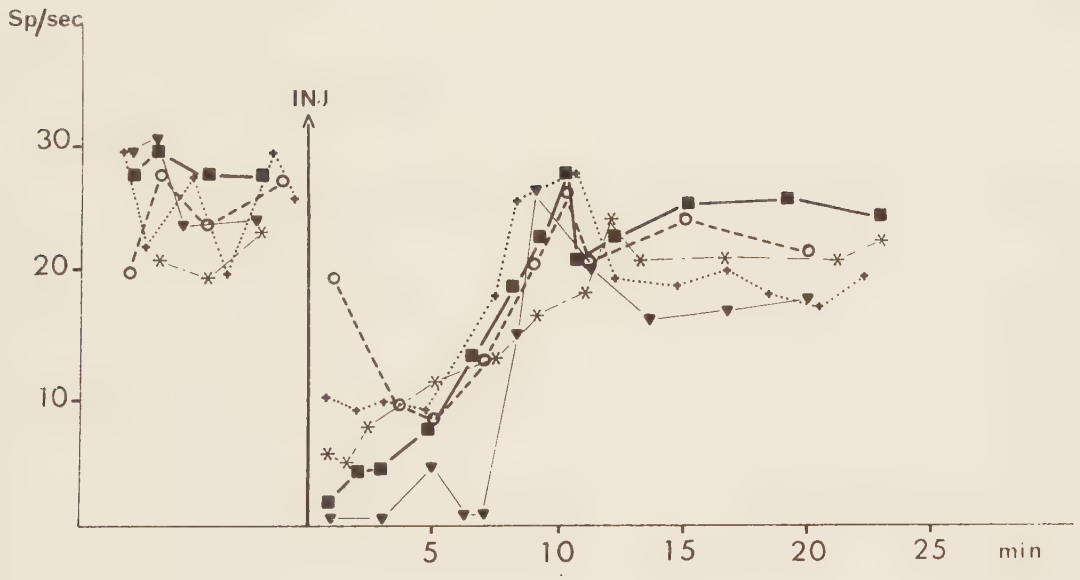


Figure 30.

Effet de l'injection de 50 µg de benzoate d'oestradiol sur 5 neurones de l'hypothalamus postérieur.

et l'effet de la 20 - OH sur 20. Les localisations et les réponses observées se répartissent comme il est indiqué sur les tableaux (IX) et (X).

L'injection de 250 µg de progestérone entraîne une diminution de la fréquence des décharges de 3 neurones de l'hypothalamus antérieur et de 9 neurones de l'hypothalamus médian (fig. 32), la latence de ces modifications varie entre 3 et 10 min. et la durée est de l'ordre de 20 min. ; des résultats comparables sont observés avec la 20 - OH (fig. 34).

L'injection de la même dose de progestérone entraîne par contre une augmentation très tardive (20 min.) de l'activité unitaire de certains neurones de l'hypothalamus postérieur, des noyaux supra-mamillaires et latéro-dorsal postérieur (fig. 33).

Il est important de remarquer que 2 injections consécutives de la même dose d'hormone n'entraînent pas la même réponse unitaire dans le noyau ventro-médian, le deuxième réponse étant plus faible que la première (fig. 35).

4. Données auto-radiographiques.

Nous venons d'aborder le problème de la localisation des structures hypothalamiques qui répondent aux stéroïdes ovariens en étudiant l'activité électrique de leurs neurones à la suite de modification du taux circulant de ces stéroïdes ; il apparaissait alors nécessaire de s'assurer que l'hypothalamus renfermait des neurones susceptibles de fixer spécifiquement ces hormones.

TABLEAU IX

Effet de l'injection systémique de progestérone sur l'activité unitaire hypothalamique

Localisation	Nombre de cellules testées	Augmentation de la fréquence	Diminution de la fréquence	Absence de réactivité
P M O	3	-	1	2
S c h	1	-	-	1
A H A	2	-	2	-
V M H	5	-	3	2
D M H	11	-	4	7
L H A	7	1	-	6
A R C	4	-	2	2
P M A	3	1	-	2
P L D	6	2	-	4
S M A	5	1	-	4
autres	3	-	-	3
TOTAL	50	5	12	33

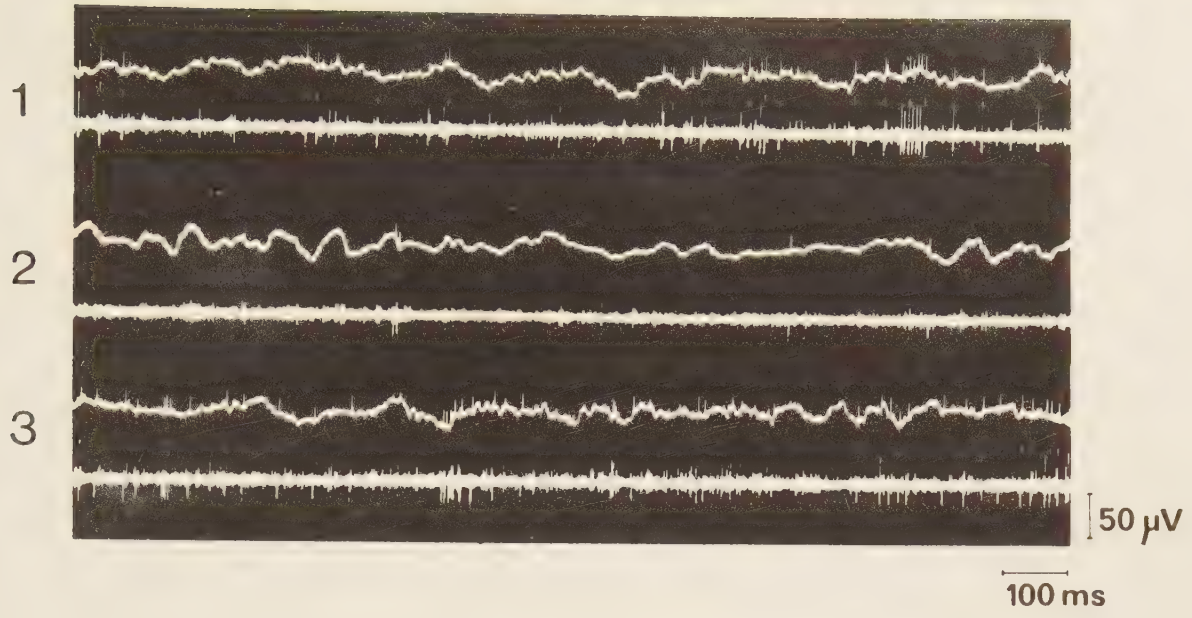


Figure 31.

Effet de l'injection de 50/ug d'oestradiol sur l'activité observée dans l'hypothalamus postérieur latéro-dorsal (H.P.L.D.). - 1 : avant l'injection 2 : 5 min. après - 3 : 20 min. après.

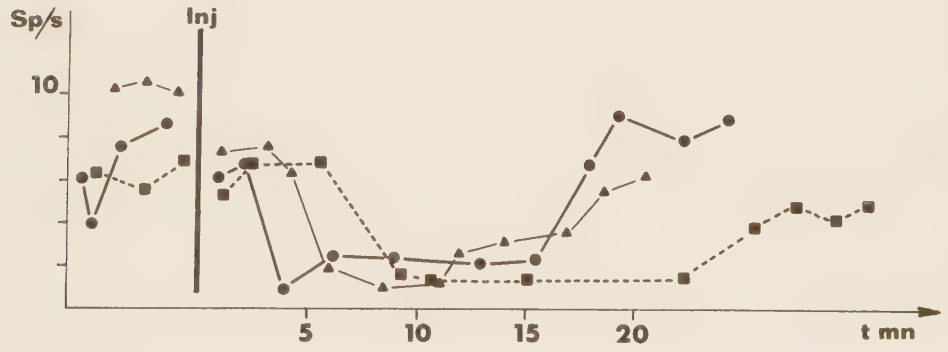


Figure 32.

Effet de l'injection de 250/ug de progestérone sur 3 neurones du noyau ventro-médian.

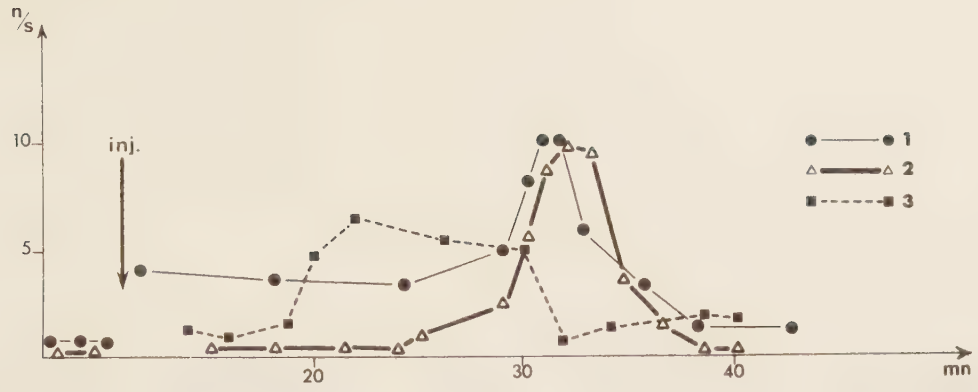


Figure 33.

Effet de l'injection de 250 /ug de progestérone sur 3 neurones de l'hypothalamus postérieur : 1 et 2 : HPLD - 3 : Supra-mamillaire SMA -

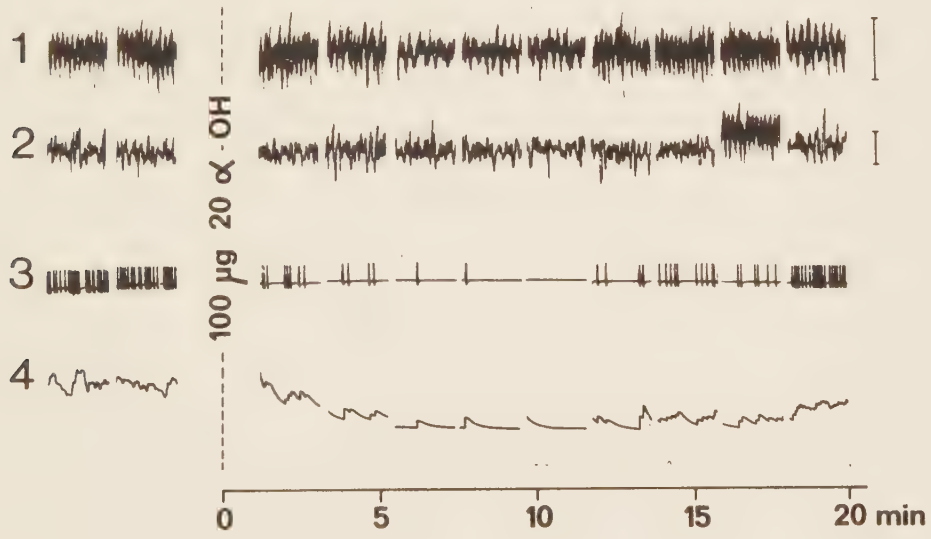


Figure 34.

Effet de l'injection de 100 /ug de 20α OH sur l'activité d'un neurone de l'aire préoptique médiane.

1 : Bulbe Olfactif - 2 : Cortex - 3 : Activité unitaire - 4 : Intégration

Des segments de 3 sec. ont été extraits de l'enregistrement continu toutes les 2 minutes et montés en séquence.

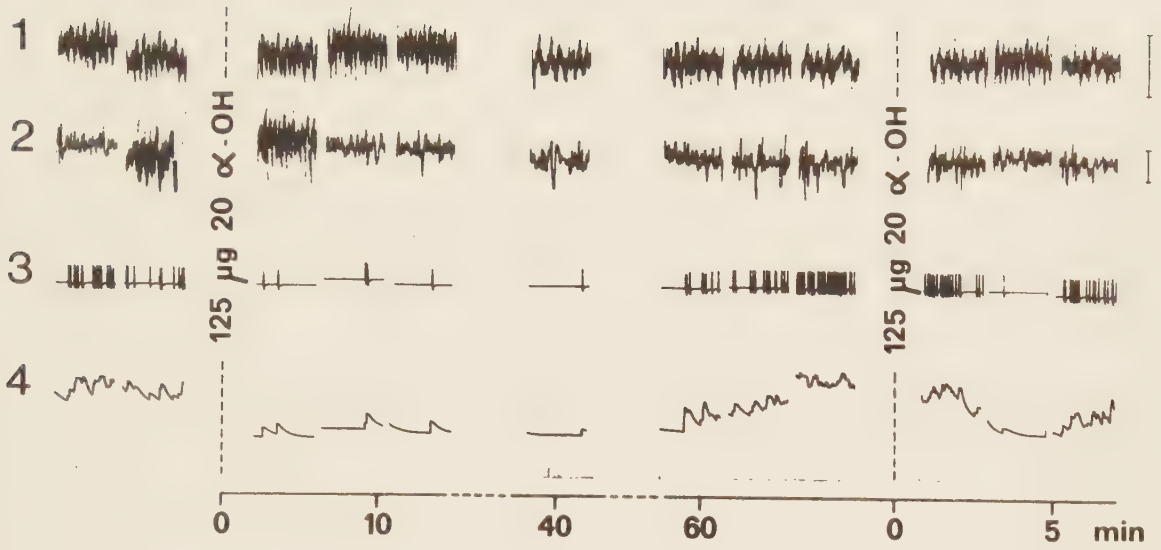


Figure 35.

Effet de 2 injections de 125 µg de 20 α - OH sur l'activité d'un neurone du noyau ventro-médian. On remarquera que l'effet de la deuxième injection est trés faible.

TABLEAU X

Effet de l'injection systémique de 20 γ - OH sur l'activité unitaire hypothalamique

Localisation	Nombre des cellules testées	Augmentation de la fréquence	Diminution de la fréquence	Absence de réactivité
M P O	3	-	2	1
D M H	6	-	2	4
V M H	4	-	3	1
L H A	4	-	-	4
autres	3	-	-	3
T O T A L	20	-	7	13

Protocole expérimental.

15 Lapines ovariectomisées ont été utilisées dans cette expérience.

Un premier groupe de trois animaux a reçu une injection intraveineuse de 250/uCi de (6,7 - ^{3}H) oestradiol (activité spécifique 10 Ci/mM). Les animaux ont été sacrifiés 1 h après l'injection.

Un deuxième groupe de 6 animaux a reçu une injection intra-péritonéale de 250/uCi de (16 - ^{3}H) - Progestérone (activité spécifique 21 Ci/mM, Solvant : benzène éthanol). Les animaux ont été sacrifiés 30 min. et 60 min. après l'injection.

Un troisème groupe de 6 animaux a reçu une injection intraveineuse de 250/uCi de (16 - ^{3}H) Progestérone (activité spécifique 21 Ci/mM - Solvant : eau distillée - éthanol). Les animaux ont été sacrifiés 5 min. et 15 min. après l'injection.

Les cerveaux sont prélevés et coupés au microtome à congélation ; les plans de coupe correspondent aux plans de CHATELIER et BUSER (1961). L'épaisseur des coupes est de 1 mm, l'hypothalamus est disséqué selon un plan horizontal passant au niveau de la commissure antérieure et deux plans verticaux distants de 2 mm de la ligne médiane.

Les échantillons sont ensuite pesés et leur radio-activité comptée au moyen d'un compteur à scintillation liquide (Inter-technique); le temps de comptage

de 20 min. pour chaque échantillon.

Les résultats des mesures figurent sur les tableaux (XI) pour les oestrogènes et (XII) pour la progestérone.

b) Fixation des oestrogènes

TABLEAU XI

Rétention de la radio-activité dans différentes zones hypothalamiques (60 min.) après injection intraveineuse (6.7 - ^{3}H) oestradiol

Régions étudiées	Désintégration par min. et par mg
A 18 - A 17	31,13 ± 8,0
A 17 - A 16	57,42 ± 10,1
A 16 - A 15	44,11 ± 9,2
A 15 - A 14	55,8 ± 9,5
A 14 - A 13	67,70 ± 12,1
A 13 - A 12	54,45 ± 5,7
Hypophyse	338,83 ± 55,3
Amygdalum	31,60 ± 7,6
Cortex	33,92 ± 8,2

Ces résultats qui ont été obtenus au moment du maximum de rétention de l'hormone (MOWLES et al., 1971) montrent tout d'abord une forte rétention au niveau hypophysaire mais également une rétention 1,5 à 2 fois plus

importante au niveau hypothalamique qu'au niveau du cortex ou de l'amygdalum.

Les régions hypothalamiques qui fixent principalement l'oestradiol sont les régions préoptique (A 17 - A 16) et médio-basales.

Ces résultats sont tout à fait comparables à ceux obtenus par d'autres auteurs chez le Rat, (ANDERSON et GREENWALD, 1969), (ZIGMOND and Mc EWEN, 1969), (KATO,1970), (KATO et VILLEE, 1967), (PFAFF, 1968), (STUMPF, 1970).

c) Fixation de la progestérone

Les résultats sont donnés en désintégration par minute et mg d'organe.

Lorsque le sacrifice est réalisé peu de temps après l'injection, (5, 15 min. et même 30 min.) il ne semble pas y avoir de fixation préférentielle du stéroïde ; la radio-activité est assez largement dispersée sur l'ensemble du cerveau ; par contre pour des temps de 60 min. on trouve une légère prédominance de la radio-activité dans l'hypothalamus antérieur ventro-médian et dans l'hypophyse.

TABLEAU XII

Rétention de la radio-activité dans différentes zones hypothalamiques après injection de (16 - 3 H) Progestérone

Régions étudiées	Injection intra-veineuse		Injection intrapéritonéale	
	5 min.	15 min.	30 min.	60 min.
A 18 - A 17	344,72	274,14	12,25 ± 2,64	11,18 ± 4,51
A 17 - A 16	377,70	244,23	13,25 ± 2,31	11,28 ± 3,76
A 16 - A 15	327,25	250,44	11,99 ± 4,04	9,90 ± 4,63
A 15 - A 14	301,81	246,70	11,84 ± 4,18	10,18 ± 4,66
A 14 - A 13	342,93	236,62	13,85 ± 4,84	6,71 ± 1,99
A 13 - A 12	366,63	278,93	14,51 ± 4,10	7,60 ± 1,42
Hypophyse	205,06	148,58	16,47 ± 2,42	18,90 ± 6,79
Amygdalum	303,95	203,66	9,29 ± 1,45	8,87 ± 2,76
Cortex	368,70	244,68	12,92 ± 0,9	7,34 ± 1,29

Des résultats comparables sont obtenus, chez le Rat, par SEIKI et HATTORI (1971).

Il est intéressant de noter que, si l'injection préalable d'oestradiol froid limite la fixation de l'oestradiol marqué, le même phénomène ne se produit pas pour la progestérone ; il n'y aurait donc pas saturation des récepteurs à la progestérone (WADE et FEDER, 1972). D'autre part, l'injection préalable d'oestradiol n'a aucun effet sur la fixation de progestérone (WAHLEN et LUTTGE, 1971). Ces résultats semblent montrer l'existence de récepteurs différents pour les deux types de stéroïdes.

5) Résumé.

Un certain nombre de neurones hypothalamiques sont sensibles aux stéroïdes ovariens : les oestrogènes entraînent une augmentation de la fréquence de décharges des neurones dans l'hypothalamus antérieur et une diminution dans l'hypothalamus postérieur ; dans l'hypothalamus médian, on observe parfois une augmentation, parfois une diminution.

Des résultats comparables sont obtenus, chez le Rat, par YAGI (1973).

Chez cette espèce l'activité électrique unitaire (DYER et al., 1972) et multiunitaire de l'hypothalamus antérieur (KAWAKAMI et al., 1970) augmente le jour du proestrus. Certains auteurs comme KAWAKAMI et al. (1970) interprètent ces résultats comme une "activation endogène de l'hypophyse antérieure" mais lorsque l'on sait que l'hypothalamus antérieur fixe les oestrogènes et que les neurones de

cette région sont trés sensibles à cette hormone on peut également interpréter ces résultats comme une rétro-action liée à l'augmentation du taux circulant des oestrogènes qui intervient à ce moment là.

La progestérone entraîne une diminution de la fréquence de décharge de certains neurones de l'hypothalamus antérieur et médian et une augmentation dans l'hypothalamus postérieur. La 20 - OH donne les mêmes résultats que la progestérone. La fixation sélective de ces stéroïdes corobore ces modifications.

IV. INTERVENTION MONO-AMINERGIQUE.

1. Influence d'injections intra-ventriculaire de monoamines sur la libération des gonadotropines
2. Effet des injections intra-ventriculaires de catécholamines sur l'activité unitaire de l'hypothalamus.

Il est généralement admis que les amines biogènes interviennent dans les mécanismes nerveux de l'ovulation. Les modalités de cette intervention sont par contre mal connues et l'objet d'hypothèses souvent contradictoires.

SAWYER et al. (1947) ont, les premiers, fait intervenir des mono-amines dans les mécanismes de l'ovulation, SAWYER (1952) montrait que l'injection intraventriculaire de 50/ug d'adrénaline (A) ou de Noradrénaline (NA) favorisait

l'ovulation chez le Lapin ; récemment RUBINSTEIN et SAWYER (1970) leur attribuaient le même effet facilitateur chez le Rat ; SCHNEIDER et Mc CANN montraient que les catécholamines jouaient un rôle prépondérant dans la libération de LRF ; KAMBERI et al. (1970) observaient des libérations de FRF après injection intra-ventriculaire de dopamine (DA). Par contre, CURRIE et al. (1969) bloquaient l'ovulation chez le Lapin par injection d'adrénaline et de noradrénaline ; FUXE et al. (1967), utilisant d'autres techniques, attribuaient à la dopamine un rôle inhibiteur sur la libération des gonadotropines ; en pratiquant des implants de dopamine dans l'éminence médiane, UEMURA et al. (1971) arrivaient aux mêmes conclusions.

Nous ne pouvions manquer d'apporter notre contribution à ce concert de dissonances. Avant d'étudier l'effet des injections intra-ventriculaires d'amines biogènes sur l'activité unitaire hypothalamique, il n'était pas inutile de regarder à nouveau l'influence de ces mêmes injections sur la libération des gonadotrophines(DUFY-BARBE et al., 1972).

1. Influence d'injections intra-ventriculaires de mono-amines sur la libération des gonadotrophines.

Une cannule implantée stéréotaxiquement dans le 3è ventricule permettait l'injection de l'amine solubilisée dans du sérum physiologique ; le volume injecté était

de 10/ul et la vitesse d'injection de 10/ul/min.

Des injections intra-ventriculaires de 10, 25, 50, 100 et 200/ug de dopamine, des injections de 10, 50, et 100/ug d'adrénaline et de noradrénaline se sont avérées incapables de provoquer une ovulation. Ces mêmes doses se sont également avérées incapables d'induire la moindre libération significative de LH (fig. 36) ;l'injection du solvant seul entraînant dans certains cas, une libération aussi importante de LH. Les variations du taux plasmatique de FSH n'apparaissent pas non plus liées à l'injection de dopamine (fig. 37). La spécificité de l'augmentation plasmatique de FSH obtenue par injection de 10/ug de DA apparaît douteuse, puisque l'injection du solvant seul entraîne des modifications comparables (fig. 37). Mais l'injection du solvant ou de 10/ug de DA n'a pas toujours donné la même réponse, le manque de fiabilité des résultats est un des facteurs dominants de ces expériences et nécessitera une étude critique. Rappelons que DONOVAN et HARRIS (1956) attribuent plutôt les effets observés à une excitation physique (pression, température) de certaines cellules ou tractus hypothalamique.

2. Effet des injections intra-ventriculaires de catécholamines sur l'activité unitaire de l'hypothalamus.

Dans cette expérience, la cannule est implantée stéréotaxiquement sous un angle de 22° afin de permettre le passage du puits de descente de la micro-électrode(fig.38).

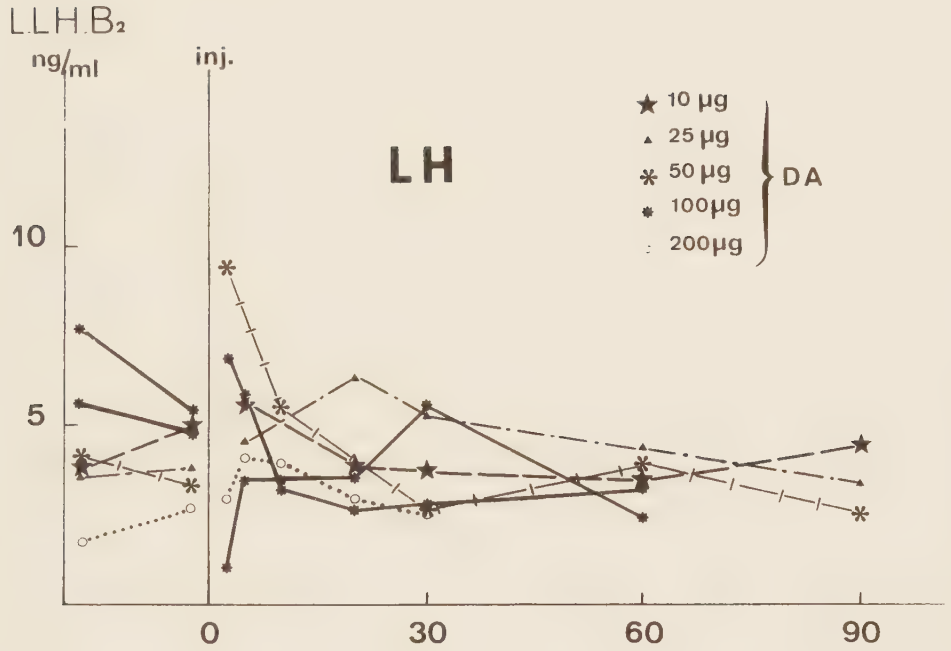


Figure 36.

Effet de l'injection intra-ventriculaire de diverses doses de Dopamine (D A) sur le taux plasmatique de L.H.

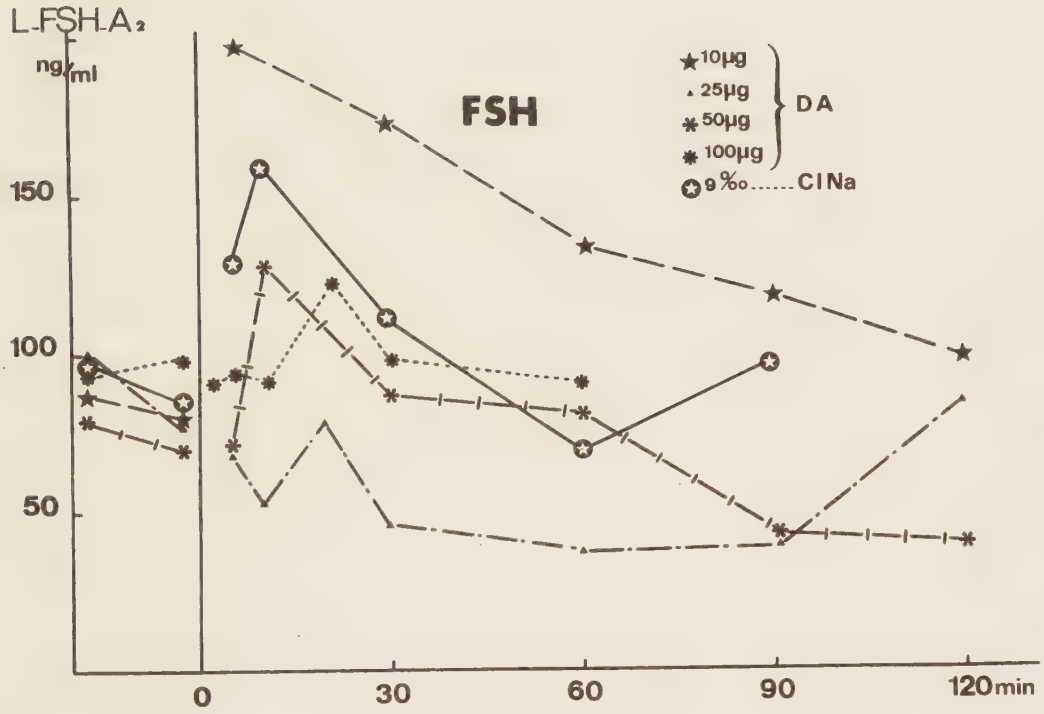


Figure 37.

Effet de l'injection intra-ventriculaire de diverses doses de Dopamine (DA) sur le taux plasmatique de F.S.H.

Des injections de 25/ug de DA et 20/ug de NA ont été pratiquées.

L'activité de 15 neurones hypothalamiques a été enregistrée avant et après injection de 25 /ug de DA ; 3 neurones sur 7 situés dans l'aire prémamillaire et la partie postérieure du noyau arqué ont répondu spécifiquement à l'injection par une diminution de l'activité unitaire dont la durée est de l'ordre de 50 min. (fig. 39). Des neurones étudiés dans le noyau ventro-médian et l'hypothalamus latéral n'ont pas répondu à l'injection. La Noradrénaline s'est avérée moins efficace.

3) Résumé.

Il ne semble pas que les catécholamines puissent provoquer à elles seules une libération de releasing factors comme l'ont décrit SCHNEIDER et Mc CANN chez le Rat ; si elles semblent incapables de modifier la sécrétion de base des gonadotrophines, elles pourraient par contre intervenir dans des mécanismes assurant la décharge phasique de LH en réponse au coït. Ainsi, la sérotonine (5/ug) inefficace lorsqu'elle est injectée 50 min., 20 min. ou 10 min. après le coït, bloque par contre l'ovulation lorsqu'elle est injectée immédiatement après et avant la 2ème min. La dopamine, injectée après le coït est incapable de bloquer l'ovulation.

Figure 38.

Radiographie d'une tête de Lapin lors de l'implantation stéréotaxique d'une cannule intra-ventriculaire et du puits de descente de la microélectrode montrant la position des différentes pièces.

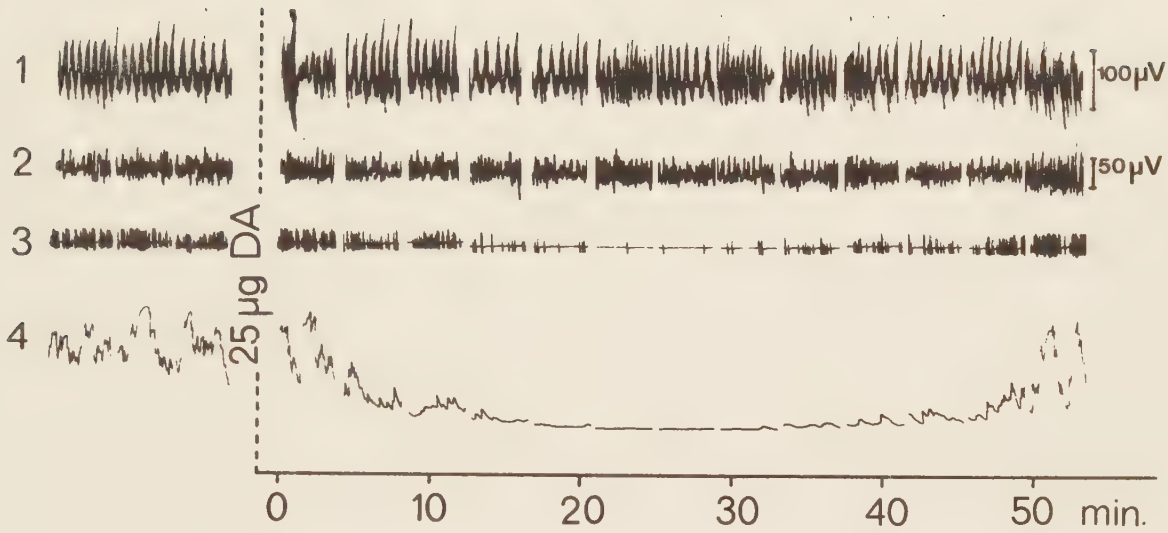


Figure 39.

Injection intraventriculaire de Dopamine.
Des segments d'enregistrement de 3 sec. ont été extraits de l'enregistrement continu toutes les 4 min. et montés en séquence.
1 : Bulbe Olfactif - 2 : Cortex - 3 : Activité Unitaire - 4 : Intégration.

La dopamine qui n'entraîne pas de modification de la sécrétion de base de LH peut modifier l'activité de certains neurones situés électivement dans le noyau arqué et la région prémamillaire.

DISCUSSION DES RESULTATS

1 - Mécanismes généraux
2 - Régulation mono-aminergique de la réponse coïtale
3 - Essai de localisation des neurones synthétisant les Releasing-factors
4 - Récepteurs hypothalamiques hormonaux
5 - Feed-back des hormones hypophysaires
6 - Feed-back des stéroïdes ovariens
7 - Action de diverses hormones sur l'activité électrique unitaire de l'hypothalamus

L'activation de récepteurs périphériques peut entraîner la libération réflexe d'une stimulation hypophysaire : la TSH en réponse au froid, l'ACTH et une stimulation nociceptive, la LH à la suite du coït ou d'une stimulation vaginale chez certaines espèces, mais elle peut également entraîner directement ou indirectement des modifications de l'activité électrique de certaines cellules hypothalamiques.

Deux concepts importants résultent de l'ensemble de ces observations :

1) l'activité électrique de certains neurones hypothalamiques peut être correlée avec l'activation pituitaire,

2) de nombreuses hormones, dont les stimulines hypophysaires influencent l'activité de base et la sensibilité des neurones hypothalamiques.

Lorsque l'on examine plus spécialement le problème

de la régulation gonadotrope on peut se demander quelle est la signification fonctionnelle des modifications de la décharge neuronale ; 3 éléments, au moins, doivent intervenir au niveau hypothalamique, a) des éléments neurosécréteurs (RF) ; b) des éléments monoaminergiques ; c) des éléments "généraux" (voies afférentes de la stimulation vaginale, lumineuse, éléments relais, etc...). Ces 3 éléments peuvent être également sensibles aux hormones gonadiques et hypophysaires et participer à ce titre, aux différents feed-back.

La plus grande partie de ce travail a porté sur l'étude des modifications de l'activité électrique des neurones hypothalamiques observées en réponse à des variations du taux circulant des hormones gonadiques ou des gonadotrophines hypophysaires mais d'autres hormones comme la TSH, l'ACTH, la prolactine, les glucocorticoïdes peuvent agir au niveau hypothalamique, nous rappellerons donc brièvement les résultats obtenus par d'autres auteurs avec ces hormones.

1) Mécanismes généraux

Deux zones hypothalamiques sont directement sollicitées par le stimulus coïtal en rapport avec la libération des gonadotrophines ; ce sont l'aire prémamillaire (APM) et le noyau ventro-médian (HVM), nous écarterons pour le moment la réponse observée dans l'hypothalamus antérieur dont la spécificité peut être mise en doute.

Nos résultats obtenus chez le Lapin ne diffèrent pas dans l'essentiel de ceux observés chez d'autres espèces à ovulation provoquée comme le Chat (KAWAKAMI et SAITO, 1967), ou à ovulation spontanée comme le Rat (KAWAKAMI et KUBO ,1971),

(KAWAKAMI et al., 1970). Chez ces espèces une augmentation de l'activité unitaire dans le noyau arqué et une diminution dans le noyau ventro-médian sont observées à la suite d'une stimulation vaginale. Ces variations de la décharge neuronale semblent donc bien répondre à des mécanismes constants d'une espèce à l'autre.

Dans le noyau ventro-médian, la superposition des effets provoqués chez l'animal hypophysectomisé et ovariectomisé par le coït et l'injection systémique de LH montre que, trés probablement, la réponse globale observée chez l'animal intact après le coït est composée d'une réponse nerveuse directe et d'un effet hormonal indirect plus tardif qui renforce et prolonge l'effet nerveux (fig. 40).

Dans l'hypothalamus prémamillaire des modifications de l'activité unitaire comportent également deux composantes (fig. 20) : une augmentation précoce mais modérée de l'activité est suivie d'une augmentation plus importante mais plus tardive. Cet effet tardif pourrait être dû à une rétro-action de LH puisqu'un effet de même sens s'observe après injection systémique de LH chez l'animal hypophysectomisé et ovariectomisé, mais d'autres interprétations sont également possibles.

Les effets précoces observés dans le noyau ventro-médian (HVM) et l'aire prémamillaire (APM) ont une latence brève, incompatible avec une action hormonale ; les neurones de ces deux régions peuvent, par contre, recevoir des afférences directes en provenance de la sphère génitale (stimulus coïtal).

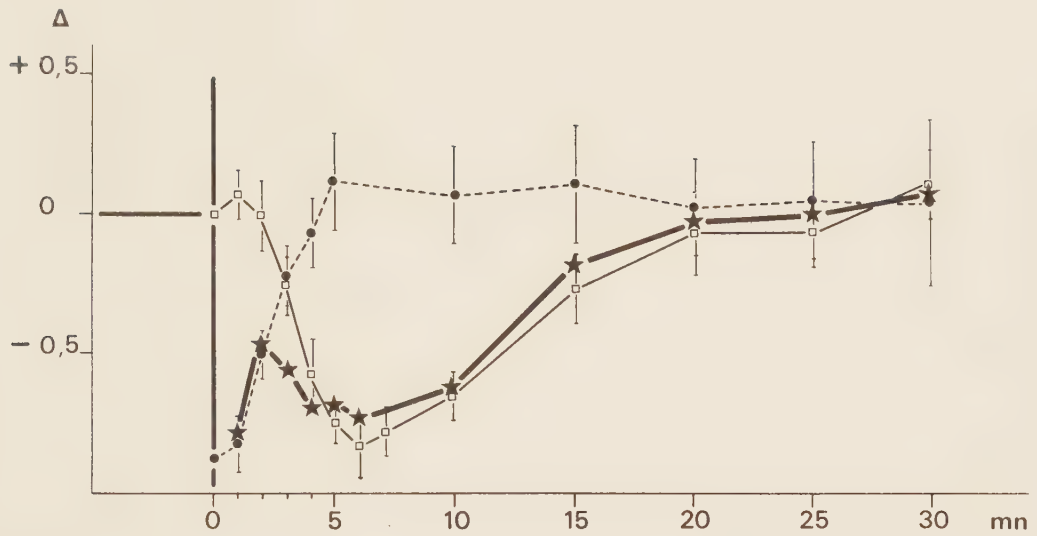


Figure 40.

Sur cette figure sont indiqués les effets observés sur l'activité unitaire de HVM par la SV (●) et l'injection systémique de LH (□) chez l'animal hypox-ovx.

En abscisse, le temps écoulé et en ordonnée le pourcentage de l'activité de base. La convolution des modifications observées chez l'animal hypox-ovx après stimulation vaginale et après injection de LH donne une réponse ★ semblable à la réponse globale observée chez l'animal entier après coït ou SV (fig. 23 bis).

2) Régulation mono-aminergique de la réponse coïtale.

Les terminaisons nerveuses de la lèvre externe de l'éminence médiane proviennent en grande partie de corps cellulaires situés dans le noyau arqué (FUXE et HÖCKFELT, 1966), (RAISMAN, 1972), mais peuvent provenir aussi de régions plus antérieures (RETHELYI et HALASZ, 1970). De nombreux travaux pharmacologiques ont mis en évidence la structure dopaminergique de ce réseau ; si l'intervention de ce dernier dans la cession des RF ne fait de doute pour personne, sa relation avec les sites de stockage et d'élaboration des RF reste problématique.

Des travaux effectués au laboratoire avec la technique de FALCK ont montré une réaction noradrénergique précoce se manifestant par une vidange des trajets et terminaisons nerveuses du noyau hypothalamique ventro-médian et de la région dorsale du noyau arqué et une réaction dopaminergique tardive se manifestant par un renforcement de la fluorescence de la zone externe de l'éminence médiane (fig.41). (BENSCH et L'HERMITE, 1969), (BENSCH et al., 1971).

Or,il a été montré que le taux de renouvellement et la libération des monoamines étaient liés au flux des potentiels d'action : une augmentation du nombre des potentiels d'action entraîne une augmentation de la synthèse et de la libération des amines alors que la diminution du taux de décharge s'accompagne d'une diminution des libérations.

(ANDEN et al., 1967), (ROTH et al., 1966), (AUSTIN et al., 1967), (FUXE et al., 1970).

Le coït provoque une diminution de l'activité unitaire des neurones du noyau ventro-médian et une diminution de la fluorescence dans cette région, mais une augmentation de la fluorescence dans la zone externe de l'éminence médiane contemporaine d'une augmentation de l'activité électrique des neurones du noyau arqué. D'autre part, l'inhibition observée dans le noyau ventro-médian (HVM) précède quelque peu la forte augmentation de l'activité du noyau arqué. Une interprétation possible ferait jouer aux neurones du HVM un rôle inhibiteur s'exerçant par l'intermédiaire de synapses noradrénergiques sur les neurones du noyau arqué et prémamillaire lesquels donneraient, quant à eux, des terminaisons dopaminergiques au niveau de l'éminence médiane. Le fait que la forte fluorescence dopaminergique de l'éminence médiane précède d'une heure environ le pic de LH est en faveur d'un effet facilitateur de la dopamine sur la libération des releasing-factors.

Ces deux systèmes recevraient cependant chacun des afférences directes en provenance de la sphère génitale, dont la nature catécholaminergique ou cholinergique ne nous est pas connue (fig. 42).

La diminution de l'activité électrique des neurones des noyaux arqué et prémamillaire (APM) après injection intra-ventriculaire de dopamine ou de noradrénaline est en faveur de cette hypothèse.

Figure 41.

Montage photographique de l'Hypothalamus médio-basal en fluorescence (technique de FALCK et al.) montrant la vidange des terminaisons de l'hypothalamus ventro-médian et l'augmentation de la fluorescence de la zone externe de l'Eminance Médiane consécutive au coït. (BENSCH et al., 1971).

Des modifications semblables après injection intra-ventriculaire de noradrénaline sont observées chez le Rat (WIENER et al., 1971) où la nature noradrénergique du noyau ventro-médian (FUXE et al., 1970) rend une telle organisation également possible. Mais quelques réserves doivent être faites sur la spécificité de l'injection intra-ventriculaire ; on pourra voir à ce sujet l'étude réalisée par DONOVAN et HARRIS (1956).

2) Essai de localisation des neurones synthétisant les RF.

Afin de ne pas compliquer le problème nous n'essaierons pas de différencier FSH-RF et LH-RF et considérons les releasing-factors gonadotropes dans leur ensemble.

A notre connaissance il n'a pas été démontré que la libération des RF était liée à une augmentation du flux des potentiels d'action dans le neurone, comme cela a pu être prouvé pour les mono-amines (ANDEN et al., 1966),(ROTH et al., 1967) ou pour les hormones post-hypophysaires (Mc BROOKS et al., 1966). Comment pourrait-il en être autrement puisqu'on ignore encore où sont et quels sont les neurones hypothalamiques élaborant les RF. On peut toutefois penser que les mécanismes sont identiques pour la neurosécrétion magno-cellulaire et la neurosécrétion parvocellulaire ; les seuls neurones susceptibles de synthése seraient alors les neurones du noyau arqué et de l'aire prémamillaire

qui seuls présentent une augmentation de leur activité après le coït ou la SV. Sans écarter cette hypothèse, il est évident qu'un tel argument n'est pas suffisant ; ENCROCZI et HILLIARD chez le Lapin, WATANABE et Mc CANN chez le Rat ont montré que l'éminence médiane était la région de l'hypothalamus qui renfermait le plus de RF ; il est donc possible que les terminaisons nerveuses de l'éminence médiane constituent des sites de stockage et que les corps cellulaires correspondants soient situés hors de ces régions, peut-être dans l'hypothalamus antérieur, comme le supposent MESS et col. (1970). CLATTENBURG et al. (1971 et 1972) ont observé 2 h à 10 h après le coït des modifications des neurones de l'hypothalamus antérieur et ces auteurs attribuent les images qu'ils observent à des synthèses de releasing-factors devant remplacer les réserves libérées par le coït au niveau de l'éminence médiane. Si de tels mécanismes existent, il est possible que nous ne les ayons pas observés ; nos techniques ne nous permettent que des études relativement courtes sur un nombre limité de neurones. A l'appui de cette hypothèse, il faut rappeler que KAWAKAMI et al., 1970 observent chez le Rat une augmentation de l'activité multi-unitaire de l'aire pré-optique médiane pendant la période critique.

Les recherches actuelles permettent donc d'envisager trois hypothèses :

a) Le RF est synthétisé dans le neurone Dopaminergique de l'aire préamillaire, (fig. 43 I).

Il a été montré que les mono-amines pouvaient être stockées avec différents types d'hormones, dans les mêmes cellules et dans la même varicosité (FALCK et OWMAN, 1968), (ERICSON (1970). CLEMENTI et al., (1970), après centrifugation des terminaisons nerveuses de la zone de l'éminence médiane, trouvent NA, DA et 5 HT dans différents gradients de densité et en concluent que ces neuro-transmetteurs sont stockés dans différents types de terminaisons nerveuses. Par contre, ils trouvent les RF et la dopamine dans le même gradient ; deux interprétations sont possibles : ces substances sont stockées dans des terminaisons différentes se comportant identiquement durant la centrifugation ou sont stockées dans les mêmes terminaisons.

Les expériences classiques de stimulations (HAYWARD et al., 1964) et de lésions (SAWYER, 1959), (BENSCH et al., 1970) ne contredisent pas cette hypothèse, nos observations non plus, mais elle ne rencontre cependant pas l'adhésion de tous les auteurs (LICHTENSTEIGER, 1971), (KOKFELT et FUXE, 1972). Il est à noter également que la distribution topographique des RF ne coïncide pas avec la distribution topographique de la dopamine (CRIGHTON et al., 1970), (MESS et al., 1970), (SCHNEIDER et al.,

b) Le RF est synthétisé dans l'aire prémamillaire (fig. 43 II).

Ce sont les premières expérimentations de lésions et de stimulations qui ont permis d'envisager cette hypothèse (SAWYER, 1959), (HAYWARD et al., 1964). Si elle peut être acceptable chez le Lapin où les expériences biochimiques de localisation in vitro des RF ne sont pas trés nombreuses, elle n'est pas valable chez d'autres espèces comme le Rat. Elle est en contradiction d'autre part avec les études ultra-structurales effectuées chez le Lapin par CLATTENBURG et al., (1971, 1972).

c) Le RF est synthétisé dans l'hypothalamus antérieur (fig. 43 III).

Chez le Lapin, CHRISTIAN (1956) a obtenu des ovulations après stimulation de l'hypothalamus antérieur ; ENDROCZI et HILLIARD (1965) ont localisé une activité RF dans l'éminence médiane, mais aussi dans l'hypothalamus antérieur, CLATTENBURG et al. (1971, 1972) ont observé des images de synthèse après le coït dans l'hypothalamus antérieur. Devant autant de preuves, obtenues par des techniques

diverses, il n'est pas trés logique d'exclure l'hypothalamus antérieur des zones hypophysiotropes du Lapin.

Il est vraisemblable que les "neurones RF" ne sont pas rassemblés dansune zone hypothalamique bien circonscrite, mais assez largement dispersés sur une zone s'étendant de l'hypothalamus antérieur au noyau arqué. Cette dispersion rend leur localisation précise assez difficile.

Les mécanismes généraux de libération des hormones hypothalamiques seraient alors, chez le Lapin, voisins de ceux rencontrés chez d'autres espèces : chez le Rat (EVERETT, 1965), (CLEMENS et al., 1971), chez le Mouton (PRZEKOP et DOMANSKI, 1970), (DOMANSKI et PRZEKOP, 1968).

4)- Récepteurs hypothalamiques hormonaux.

L'existence de "feed-back court" et de "feed-back long" n'est plus mise en doute. Le problème des récepteurs hypothalamiques où se situe cette action n'en est pas pour autant résolu.

Selon les conditions expérimentales les oestrogènes et les progestagènes peuvent bloquer ou provoquer la libération des gonadotrophines (Cf. Van REES, 1964, EVERETT, 1969, MARTINI, 1969, DAVIDSON et al., 1970, MOTTA et al., 1970). De nombreuses observations montrent indirectement que les rétro-actions des oestrogènes et des progestagènes sur la libération des gonadotrophines mettent en jeu des

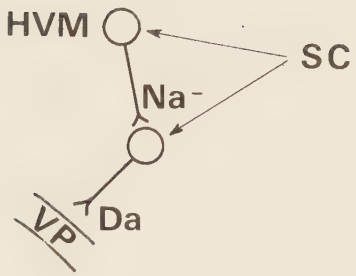


Figure 42.

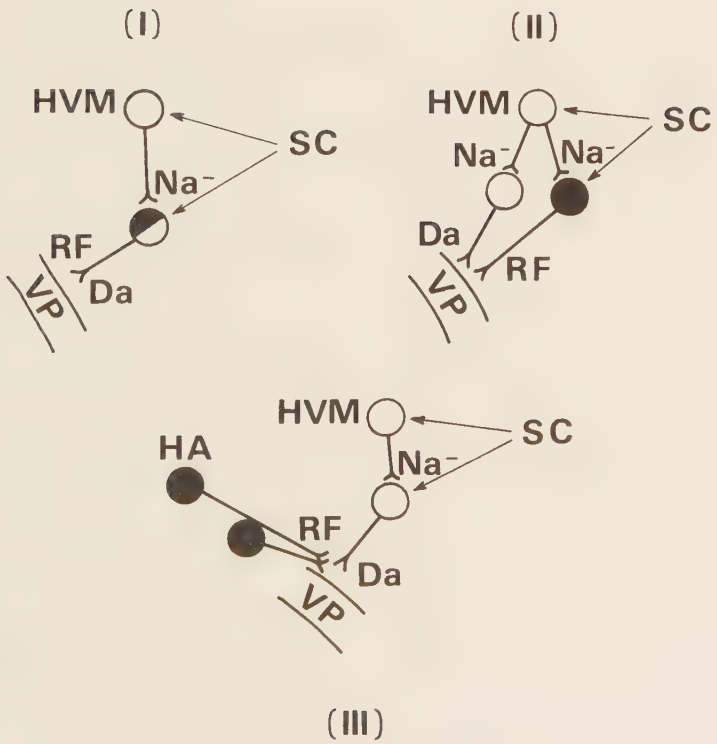


Figure 43.

SC : Stimulus coïtal - VP : Vaisseau post-hypophysaire

HVM : hypothalamus ventro-médian - ARC : noyau arqué

HA : hypothalamus antérieur

○ : neurone monoaminergique

● : neurone synthétisant un RF

mécanismes différents, auxquels il est logique de faire correspondre des neurones différents. Les implants ne permettent pas, à cause de la capacité de diffusion des hormones in situ, la localisation précise du lieu des différents feed-backs, (BOGDANOVE, 1963), (PALKA et al., 1966) ; les techniques d'enregistrement de l'activité électrique paraissent plus fiables mais se heurtent à deux problèmes : (1) la distinction entre neurone "hormono-récepteur" et neurone "hormono-sensible" et (2) la signification physique et biochimique des modifications neuronales observées.

L'enregistrement des modifications de l'activité unitaire d'un neurone qui suivent des variations de l'hormonémie ne permet pas de conclure à la nature "hormono-réceptrice" de ce neurone, mais seulement à son "hormono-sensibilité". Un neurone hormono-récepteur devrait être pourvu de "site récepteur" spécifique et devrait fournir un effet en réponse à l'inter-action de l'hormone (voir à ce sujet BEAULIEU et al., 1971).

Le problème (1) reçoit une réponse indirecte par la confrontation avec les résultats d'autres techniques (l'auto-radiographie entre autre), mais ne sera tranché que par des techniques de micro-injections in situ ou biochimiques. Le problème (2) vient de la dissociation entre la brièveté des modifications neuronales observées (20 à 60 min.) à la suite d'injections hormonales et la latence prolongée des réponses endocriniennes qu'elles provoquent (24 h ou plus).

La brièveté relative (20 à 60 min.) des modifications de l'activité unitaire observées à la suite de l'injection systémique d'hormones risquent de ne pas rendre compte de la complexité des mécanismes enzymatiques et des synthèses susceptibles de se produire dans la cellule hormonoréceptrice en réponse à l'action de l'hormone. A l'exception de la rétro-action positive que la 20 α - OH semble exercer sur la libération de LH et que se produirait dans les premières minutes après la stimulation coïtale (HILLIARD et al., 1961, 1964), les hormones stéroïdes n'agissent sur la libération des gonadostimulines ou sur le comportement qu'après un intervalle de temps souvent long, MICHAEL (1965) rapporte qu'une augmentation rapide de la radio-activité s'observe dans le cerveau après injection d'hexoestrol marqué alors que le comportement correspondant ne se manifeste que longtemps après la disparition de cette radio-activité qui est de l'ordre de quelques heures (Mc EWEN et al., 1970) ; la diminution du taux plasmatique de LH ou de FSH après injection de 50 µg de benzoate d'oestradiol chez le Lapin castré n'est décelable que 24 h après l'injection, alors que les modifications de la décharge des neurones hypothalamiques sont suivies pendant une heure seulement après l'injection ; les mécanismes d'action des stéroïdes ovariens sont mal connus ; on sait seulement qu'ils interviennent dans les processus de synthèse et de cession hormonale, a) par la formation

d'une protéine, d'un médiateur comme l'AMP cyclique (HECHTER et SOIFFER, 1971) ou d'un releasing-factor, b) par des actions sur le métabolisme des neuro-transmetteurs, c) par la formation d'un enzyme, d) par une modification de la configuration membranaire (GORSKI, 1971).

SCHALLY et al., (1969) observent une diminution de l'action inhibitrice des oestrogènes sur la libération de LH in vivo lorsque la synthèse des ARN est supprimée par l'actinomycine D;SCHNEIDER et Mc CANN (1970) observent un effet comparable.

Il est intéressant de remarquer que les mêmes mécanismes ont été décrits pour les récepteurs utérins où l'application locale d'actinomycine D empêche la réponse de l'organe à l'hormone (TALWAR et SEGAL, 1963), (UI and MUELLER, 1963), (TALWAR, 1969), car la cinétique des synthèses intra-cellulaires provoquée par les oestrogènes a été étudiée principalement à ce niveau, (NOTIDES et GORSKI, 1965), (MEANS et HAMILTON, 1966), (HAMILTON, 1968, 1971).

La synthèse des ARN nucléaires est déjà sensible 2 min. après l'injection, elle est maximum aux environs de la 20è minute et diminue ensuite tout en restant un peu supérieure aux contrôles (MEANS et HAMILTON, 1966). Les ARN n'apparaissent dans le cytoplasme qu'après la 90è minute et ne sont vraiment augmentés qu'aux environs de 4 h ; les premières synthèses protéiques s'observent 8 à 12 h après injection unique de 10 µg d'oestradiol 17

(HAMILTON, 1968, HAMILTON, 1971).

FRITH et HOOPER (1971, a et b) montrent que de nombreuses activités enzymatiques de l'hypothalamus, diminuent après le coït chez le Lapin, mais augmentent à la suite d'une injection de stéroïdes.

KAMBERI et KOBAYASHI (1970) observent des modifications de l'activité mono-amine oxidasique au cours du cycle ; BEATTIE et al. (1972) montrent une augmentation de l'activité de la tyrosine hydroxylase à la suite d'une injection d'oestrogène chez le Rat ovariectomisé, la progestérone a un effet inverse. JANOWSKI et DAVIS (1970) observent des modifications de la captation et de la libération de noradrénaline dans les synaptosomes en présence d'oestrogènes et de progestérone. Par contre FUXE et al., (1971) n'observent pas d'influence des oestrogènes au niveau des terminaisons dopaminergiques de l'éminence médiane.

Il est également possible que les stéroïdes ovariens agissent par une action à court terme effectuée sur la perméabilité membranaire, intervenant ainsi surles propriétés électrophysiologiques du neurone. On remarquera toutefois à propos de cette action,qu'on ignore toujours la correlation exacte entre les phénomènes de synthèse libérateur hormonal et l'activité électrique du neurone sécréteur.

On ignore si les stéroïdes provoquent la séquence des effets décrits, par occupation prolongée des récepteurs ou par une inter-action rapide avec certaines molécules

de ces récepteurs (STUMPF et al., 1971). Nos résultats d'enregistrement électrophysiologique et les résultats des expériences de fixation de stéroïdes marqués seraient en faveur de la deuxième hypothèse.

Dans le même ordre d'idée, il faut rappeler les expériences de DYBALL (1969, 1970) ; cet auteur a corrélé la réponse électrique d'un neurone neuro-sécréteur à une stimulation osmotique et la libération de vasopressine, cette étude donne la possibilité d'établir une relation directe entre l'activité électrique du neurone et la libération hormonale ; or la libération de vasopressine dure 5 minutes au moins après la fin de la décharge neuronale, suggérant qu'il n'existe pas de corrélation directe entre les potentiels d'action et la libération hormonale.

Il semble donc bien que les évènements électrophysiologiques que nous observons participent seulement à la mise en train de processus complexes et nombreux qui aboutissent à la réponse neuro-endocrinienne ; leur brièveté relative n'est pas en contradiction avec la latence des réponses, mais leur signification fonctionnelle profonde reste à élucider.

5) Feed-back courts des hormones hypophysaires.

L'hypothèse qui a été faite concernant les relations entre certains neurones du noyau ventro-médian et les neurones dopaminergiques du noyau arqué peuvent expliquer les résultats observés après injection systémique de

LH : l'inhibition du noyau ventro-médian correspondant à l'augmentation de l'activité des neurones du noyau arqué. Ce feed-back serait alors un feed-back positif puisqu'il est susceptible de favoriser la libération de RF.

Les modifications observées dans l'hypothalamus antérieur supra-chiasmatique et pré-optique médian ne sont peut être pas spécifiques, mais si nous supposons dans ces régions l'existence de cellules synthétisant les RF, nous ne pouvons négliger la possibilité d'un feed-back négatif direct sur les cellules synthétisant les RF. Ce sont les seules régions, à part l'hypophyse elle-même, où nous pouvons envisager l'existence d'un feed-back négatif. Les mêmes remarques sont à établir pour le FSH bien que le nombre de cellules sensibles à cette hormone soit plus restreint que dans le cas de la LH.

Dans cette hypothèse, le feed-back positif de la LH pourrait se produire par l'intermédiaire des mécanismes mono-aminergiques responsables de la décharge phasique de l'hormone d'ovulation, alors que le feed-back négatif agirait directement sur les neurones synthétisant les RF.

6) Feed-back long des hormones gonadiques.

Il est certain que le rôle des stéroïdes sexuels est de moduler ces mécanismes, d'en bloquer certains, d'en favoriser d'autres.

a) Feed-back long des progestégènes.

feed-back positif

Nous considérerons ici surtout les effets de la 20 - OH puisque cette hormone est celle qui est libérée après la stimulation coïtale chez le Lapin ; ces effets sont d'ailleurs comparables à ceux obtenus avec la progestérone.

Deux types de réponse ont été observés :

1. - une diminution de l'activité de certains neurones situés dans l'hypothalamus dorso-ventro-médian et antérieur ; la latence de cette modification est courte (2 à 5 min.).

2. - une augmentation de l'activité de certains neurones de l'aire prémamillaire et de l'hypothalamus postérieur ; la latence de cette modification est beaucoup plus longue (20 à 30 min.).

L'effet facilitateur de la 20 α - OH sur la décharge de LH a une latence brève (HILLIARD et al., 1961, 1964). Il semble donc bien, selon notre hypothèse, que la 20 - OH facilite la libération des releasing-factors en agissant sur les neurones des noyaux ventro- et dorso-médian cette hormone agirait alors en synergie avec la LH. La 20 - OH semble avoir la même action sur certains neurones de l'hypothalamus antérieur. KARLA et al. (1972) ont également émis, chez le Rat, l'hypothèse d'un feed-back

positif de la progestérone sur l'hypothalamus antérieur.

L'augmentation de l'activité électrique observée dans l'aire prémamillaire après injection de progestérone est comparable à celle obtenue après injection de LH ; elle est donc vraisemblablement due à la même cause, c'est-à-dire à la levée de l'inhibition exercée par les neurones du noyau ventro-médian.

Des réponses identiques ont été observées dans des régions légèrement plus postérieures et supra-mamillaires ; elles ont peut-être également été enregistrées sur des neurones concernés par la libération des gonadotrophines puisque, chez le Rat, MAKARA et al., (1972) ont identifié par stimulation antidromique de l'éminence médiane des neurones dont les corps cellulaires sont situés dans ces régions, mais ce sont peut être aussi des neurones liés aux mécanismes du comportement d'estrus (SAWYER, 1959).

feed-back négatif.

C'est un effet tardif qui se produit quelques heures après l'injection, (KAWAKAMI et SAWYER, 1959) dont le site principal semble être l'hypophyse elle-même (SPIES et al., 1969). HILLIARD et al., (1971) ont montré que chez le Lapin, des pré-traitements à la progestérone bloquaient l'ovulation normalement induite par des injections intra-pituitaires de LH-RH.

Des résultats comparables ont été obtenus chez le Mouton et chez le Rat ; il est à noter que les oestrogènes

entraînent une légère facilitation de la réponse au LH-RF, que la progestérone seule a peu d'effet, mais que l'association des deux hormones est trés efficace (DEBELJUK et al., 1972).

Les techniques d'implants ont par contre montré que le site principal du blocage de l'ovulation par la progestérone se situait au niveau de l'hypothalamus médio-basal. Il est toutefois clair que le stéroïde diffuse dans l'hypophyse (PALKA et al., 1966) et que l'inhibition de la sécrétion des gonadotrophines s'accompagne d'une diminution de la sensibilité de l'hypophyse au LH-RF (DAVIDSON et al., 1970). Il n'est cependant pas impossible qu'il existe une rétro-action négative des progestagènes au niveau hypothalamique.

b) Feed-back long des oestrogènes.

feed-back positif

Contrairement à la progestérone, les oestrogènes sensibilisent l'hypophyse aux releasing factors (DORNIP et DOCKE, 1967, WEICK et al., 1971, DEBELJUK et al., 1972); SCHNEIDER et Mc CANN (1970) supposent que les oestrogènes agissent sur l'hypophyse avant d'affecter l'hypothalamus. D'autres auteurs comme CRIGHTON et al., (1970) et KALRA et al., (1972) attribuent également à l'hypothalamus antérieur un rôle facilitateur sur la décharge de LH et l'intégralité de l'hypothalamus antérieur est nécessaire

pour que l'effet stimulateur des oestrogènes se manifeste, même lorsque les implants d'oestrogènes sont effectués directement dans l'hypophyse (DORNER et DOCKE,1967). Ces résultats semblent indiquer que la diffusion des oestrogènes atteint l'hypothalamus antérieur ou bien que l'hypothalamus antérieur contient des éléments synthétisants les releasing-factors.

feed-back négatif

L'augmentation de l'activité électrique que nous observons dans l'hypothalamus antérieur, après injection d'oestrogène chez le Lapin castré, a également été remarquée par KAWAKAMI et KUBO (1971) chez le Rat castré ; ces résultats peuvent s'interpréter dans le sens de l'hypothèse de SCHNEIDER et Mc CANN (1970) ; selon laquelle les oestrogènes entraîneraient la synthèse, dans le neurone peptidergique, d'une protéine qui inhiberait l'effet libérateur de la dopamine sur le LH-RF.

En implantant dans l'hypothalamus médio-basal des micro-cristaux d'oestrogènes, KANEMATSU et SAWYER (1963, 1964) ont montré, par contre, que cette région devait être le lieu principal du feed-back négatif des oestrogènes.

HÖKFELT et FUXE (1972) remarquent que les oestrogènes influencent clairement les neurones noradrénergiques et STUMPF , 1971, STUMPF et al., 1971 et nous-mêmes (1972), observent une nette fixation du stéroïde

marqué à ce niveau ; il est donc vraisemblable qu'une partie du feed-back des oestrogènes s'effectue sur des éléments de cette région. La diversité des réponses observées ne permet pas de donner une image simple des mécanismes, ni de localiser les éléments intéressés.

Nous avons essayé de schématiser les mécanismes de rétro-action hormonale et de fixer pour chacun d'eux, une zone privélégiée où ils s'exercent. Il ne peut être toutefois exclu que pour une même cellule la réponse à une même hormone puisse varier suivant l'équipement enzymatique cellulaire, soit que le substrat hormonal s'engage dans une voie métabolique ou dans une autre, soit que le fonctionnement d'une voie soit à l'origine de son inhibition secondaire (LABORIT, 1972).

L'étude des rétro-actions hormonales a été effectuée sur des animaux castrés ou castrés et hypophysectomisés, c'est-à-dire sur des structures extrêmement riches en releasing-factors, donc différentes des conditions physiologiques.

Le modèle que nous avons utilisé en est toutefois assez proche puisque la stimulation coïtale entraîne un enrichissement considérable de RF qui permet la comparaison avec les modèles précédents.

7. Action des diverses hormones sur l'activité unitaire de l'hypothalamus.

Dans nos expériences nous nous sommes

étonnés de la courte durée de la réponse des cellules hypothalamiques à une injection hormonale posant notamment le problème des récepteurs hypothalamiques aux stéroïdes gonadiques et celui des relations entre les transformations physio-chimiques, les modifications de l'activité électrique des cellules cibles et les comportements qui découlent de l'action hormonale ; le problème semble se poser dans les mêmes termes pour d'autres hormones, en distinguant toutefois les stimulines hypophysaires des stéroïdes. Ainsi l'étude de la sensibilité des neurones hypothalamiques aux hormones cortico-surrénaliennes a été abordé par différentes techniques ; injections systémiques et micro-injections locales (SLUSHER et al., 1966), applications électrophorétiques (RUF et STEINER, 1967). L'injection intraveineuse de 25 µg d'hydrocortisone entraîne des modifications de l'activité unitaire d'un certain nombre de cellules diencéphaliques dispersées sur une aire assez large comprenant notamment l'hypothalamus dorsal et postérieur, la jonction diencéphalo-mésencéphalique, la substance grise périventriculaire hypothalamique et la substance grise centrale mésencéphalique.

Les gluco-corticoïdes injectés par voie systémique entraînent des modifications très comparables à celles observées après injection de stéroïdes gonadiques : après une latence de quelques minutes l'effet de l'hormone se manifeste par des modifications de l'activité électrique dont la durée est de l'ordre de 20 à 60 min. (SLUSHER et al., 1966). Il est intéressant de noter que les cellules

qui répondent aux glucocorticoïdes sont insensibles aux oestrogènes et réciproquement (YAGI, 1973).

Chez le Rat, l'ACTH déprime l'activité multi-unitaire de la zona incerta et augmente l'activité du noyau arqué (SAWYER et al., 1969) la réponse s'observe également chez le Rat adrénalectomisé indiquant qu'il pourrait y avoir un effet direct de cette hormone sur les neurones du noyau arqué mais les doses injectées par SAWYER semblent bien importantes ; utilisant des doses beaucoup plus faibles VAN DELFT et KITAY (1972) observent des neurones dont l'activité électrique est modifiée (généralement augmentée) par l'injection d'ACTH mais ces auteurs ne peuvent pas définir une organisation spatiale des neurones sensibles à l'ACTH. Les paramètres de la réponse ; 1,6 min. pour la latence et 6.4 min. pour le maximum, sont un peu inférieurs à ceux que nous avons pu observer pour la LH.

La prolactine, elle aussi, modifie l'activité spontanée d'un certain nombre de cellules hypothalamiques, (CLEMENS et al., 1971) ; comme pour les autres hormones on peut observer les deux types de réponse (augmentation et diminution).

Les zones hypothalamiques comportant la plus grande densité de neurones sensibles à la prolactine sont l'hypothalamus dorso-médian et l'aire préoptique.

CONCLUSIONS

Le stimulus coïtal modifie profondément l'activité électrique de deux groupes de neurones ; ce sont des neurones situés dans l'Hypothalamus ventro-médian, qui montrent une diminution de leur activité entre la 1è et la 20è minute après le stimulus coïtal ; des neurones de l'aire tubérale prémamillaire. En outre, parallèlement à ces modifications essentielles, on constate une diminution de l'activité de certains neurones de l'hypothalamus antérieur et une augmentation de l'activité de neurones situés dans l'hypothalamus postéro-latéro-dorsal.

La comparaison des résultats obtenus après stimulation coïtale, chez la Lapine hypophysectomisée et ovariectomisée, après injection hormonale intra-veineuse, montre que la réponse observée dans l'hypothalamus médio-basal chez la Lapine entière résulte de la sommation d'un effet nerveux précoce et de rétro-actions hormonales plus tardives qui renforcent et prolongent cet effet nerveux.

Ces rétro-actions hormonales tardives sont positives, elles s'exercent sur l'hypothalamus ventro-médian en freinant des structures inhibitrices et sur l'hypothalamus prémamillaire en renforçant, directement ou indirectement, des processus nerveux de nature peptidergique ou dopaminergique.

La comparaison des résultats obtenus après stimulation coïtale chez la Lapine entière et après injection

intraveineuse hormonale chez la Lapine hypophysectomisée et ovariectomisée montre une corrélation trés nette entre les modifications de l'activité électrique des neurones de l'hypothalamus ventro-médian et de l'aire prémamillaire ; ce fait suggère l'existence d'une relation fonctionnelle entre les neurones de ces deux régions et le sens de ces modifications est en faveur d'une voie inhibitrice.

Les stéroïdes ovariens, oestrogènes et progestagènes (progestérone et 20α -hydroxy-pregnen-4-en-3-one (20α - OH) modifient l'activité électrique de certains neurones hypothalamiques ; la corrélation auto-radiographique confirme que la fixation du stéroïde s'effectue préférentiellement dans les zones où l'électrophysiologie nous a permis de localiser des neurones hormono-sensibles.

Dans nos conditions expérimentales, les injections intra-ventriculaires de catécholamines se sont avérées incapables de provoquer, à elles seules, une ovulation ou de modifier le taux de base des deux gonadotrophines LH et FSH. Les mêmes injections modifient, par contre, l'activité électrique de certains neurones de l'hypothalamus basal prémamillaire, la confrontation de ces résultats avec ceux de l'histofluorescence et des dosages radio-immunologiques permet cependant de leur attribuer un rôle, qui reste à définir, dans la libération des releasing-factors à la suite du coït.

BIBLIOGRAPHIE

- ALBE-FESSARD, D., HESSE, O., (1953) - Le facteur de pression artérielle dans l'accroissement adrénalinique de l'activité corticale chez le Lapin.
J. Physiol. (Paris), 45, 16-20.

- ALBE-FESSARD, D., STUTINSKY, F., LIBOUDAN, S.L.,(1966) - Atlas stéréotaxique du diencéphale du Rat blanc.
C.N.R.S., Paris.

- ALCARAZ, M., GUZMAN-FLORES, C., SALAS, M., and BEYER, C., (1969) - Effect of estrogen on the responsitivity of hypothalamic and mesencéphalic neurons in the female cat.
Brain Research, 15, 439-446.

- ANDEN, N.E., FUXE, K., HÖKFELT, T., (1967) - Effect of some drugs on central monoamine nerve terminals lacking nerve impulse flow.
Europ. J. Pharmacol., I, 226-232.

- ANDERSON, C.H., GREENWALD, G.S., (1969). - Autoradiographic analysis of estradiol uptake in the brain and pituitary of the female Rat.
Endocrinology, 85, 1160-1165.

- ASDELL, S.A. (1946) - Patterns of mammalian reproduction
Ithaca, New-York : Comstock Publishing Company.

- AUSTIN, L., LIVETT, B.G., CHUBB, I.W., (1967) - Increased synthesis and release of noradrenaline and dopamine during nerve stimulation.
Life Sci. Oxford, 6, 97-104.

- BARBE, L., DUFY, B., BENSCH, Cl., FAURE, J.M.A.,(1969) - Veille et Sommeil chez la Ratte en éclairement permanent. J. Physiol. (Paris), 61, 204-205.

- BARRACLOUGH, C.A., CROSS, B.A., (1963) - Unit activity in the hypothalamus of the cyclic female Rat : effect of genital stimuli and progesterone. J. Endocrinol., 26, 339-359.

- BARRY, J., and COTTE, G., (1961) - Etude preliminaire au microscope électronique de l'éminence médiane du Cobaye. Z. Zellforsch. 53, 714-724.

- BAUST, W., NIEMCZYK, H., VILTH, J., (1963) - The action of blood pressure on the ascending reticular activating system with special reference to adrenaline-induced EEG arousal. Electroencephalog. Clin. Neurophysiol., 15, 63-72.

- BEATTIE, G.W., RODGERS, C.H., SOYKA, L.F., (1972) - Influence of ovariectomy and ovarian steroïds on hypothalamic thyrosine hydroxylase activity in the Rat. Endocrinology, 91, 276-279.

- BEAULIEU, E.E., ALBERGA, A., JUIG, I., LEBEAU, M.C., MERCIER-BODARD, C., MILGROM, E., RAYNAUD, J.P., RAYNAUD-JAMET, C., POCHEFORT, H., TRUONG, H., ROBEL, P.,(1971)- Metabolism and protein binding of sex steroïds in arg et organs : an approach to the mechanism of hormone action. Recent Progr. Hormone Res., 27, 351-419.

- BENOIT, J.,et ASSENMACHER, I., (1951) - Contribution à l'étude des relations hypothalamo-hypophysaires et de leur rôle dans la gonado-stimulation chez le Canard domestique. J. Physiol., (Paris), 43, 643-645.

- BENSCH, Cl., BARBE, L., RODRIGUEZ, Fl., FAURE, J.M.A., (1970) - Observations sur l'ovulation provoquée chez la Lapine par des stimulations électriques hypothalamiques. Ann. Endocrinol., 31, 557-566.

- BENSCH, Cl., VINCENT, J.D., FAURE, J.M.A., (1971) - Exploration par la technique histochimique de Falck des amines biogènes hypothalamiques chez la Lapine en cours d'ovulation.
6è Congrés Européen d'Endocrinologie Comparée - Abstract n° 18, 1971, 2-7 août - Montpellier.

- BENSCH, Cl., L'HERMITE, P., (1969) - Etude par la microscopie de fluorescence, de la région médiane de l'hypothalamus de la Lapine. Changements constatés après coït.
C.R. Acad. Sc., (Paris), 269, 2560-2563.

- BENSCH, Cl., RODRIGUEZ, F., FAURE, J.M.A., (1969) - Influence de la lumière dans les phénomènes ovulatoires chez la Lapine.
Communication présentée à la Journée d'Etude sur le Lapin. Ecole Nationale d'Alfort, 28 mai 1969.

- BEYER, C., RAMIREZ, V.D., WHITMOYER, D.I., and SAWYER, C.H., (1967) - Effects of hormones in the electrical activity of the brain in the Rat and Rabbit.
Exptl. Neurol., 18, 313-326.

- BEYER, C., ALMANZA, J., DE LA TORRE, L., and GUZMAN-FLORES, C., (1971) - Effect of genital stimulation on the brain stem multi-unit activity of anestrous and estrous cats.
Brain Research, 32, 143-150.

- BOGDANOVE, E.M.,(1963) - Direct gonad-pituitary feedback, an analysis of effects of cranial estrogenic depots on gonadotrophin secretion.
Endocrinology, 73, 696-712.

- BONVALLET, M., DELL, P., HIEBEL, G.,(1953). - Sinus carotidien et activité électrique cérébrale.
Electroencéphalograp. Clin. Neurophysiol., 6, 119-144.

- BORELL, U., WESTMAN, A., and ORSTROM, A. (1947) - Studies on the functions of the hypophyseal - diencephalic system and of the ovaries by means of radioactive phosphorus.
Gynaecologia, 123, 186-200.

- BRADBURY, J.J. , (1944) - Estrous rabbit as quantitative assay animal.
Endocrinology, 35, 317-324.

- BRANCHEY, M., BRANCHEY, L., NADLER, R.D., (1971) - Effects of estrogen and progesteron on sleep patterns of female Rats.
Physiology and Behavior, 6, 743-746.

- BROWN-GRANT, K., EL KABIR, D.J., FINK, G., (1968) - The effect of mating on pituitary luteinizing hormone and tyrotrophic hormone content on the female Rabbit.
J. Endocr., 41, 91-94.

- CAMPBELL, H.J., FEUER, G., GARCIA , J., and HARRIS, G.W., (1961) - The infusion of brain extracts into the anterior -pituitary gland and the secretion of gonadotrophic hormone.
J. Physiol., 157, 30 p.

- CAMPBELL, H.J., FEUER, G., and HARRIS, G.W., (1964) - The effect of intra-pituitary infusion of median emminence and other brain extracts on anterior pituitary gonadotrophic secretion.
J. Physiol., 170, 474-486.

- CESSION, G., CESSION-FOSSION, A., LILET, R., (1966) - Action de la progestérone sur trois agents endogènes à action hypertensive.
Compt. Rend. Soc. Biol., 159, 1864-1866.

- CHATELIER, G., BUSER, P., (1961) - Atlas stéréotaxique du Lapin de race "Fauve de Bourgogne".
Electroenceph. Clin. Neurophysiol. B., 951-953.

- CHRIST, J.F., (1969) - Derivation and boundaries of the hypothalamus, with atlas of hypothalamic grisea.
In The Hypothalamus, W. HAYMAKER, E., ANDERSON, W.J.H. NAUTA, Eds, Springfield, Illinois, 13-60.

- CHRISTIAN, D.C., (1956) - Studies on the neuroendocrine control of ovulation in the Rabbit.
Ph. D. Diss., Duke University.

- BRADBURY, J.J. , (1944) - Estrous rabbit as quantitative assay animal.
Endocrinology, 35, 317-324.

- BRANCHEY, M., BRANCHEY, L., NADLER, R.D., (1971) - Effects of estrogen and progesteron on sleep patterns of female Rats.
Physiology and Behavior, 6, 743-746.

- BROWN-GRANT, K., EL KABIR, D.J., FINK, G., (1968) - The effect of mating on pituitary luteinizing hormone and tyrotrophic hormone content on the female Rabbit.
J. Endocr., 41, 91-94.

- CAMPBELL, H.J., FEUER, G., GARCIA , J., and HARRIS, G.W., (1961) - The infusion of brain extracts into the anterior -pituitary gland and the secretion of gonadotrophic hormone.
J. Physiol., 157, 30 p.

- CAMPBELL, H.J., FEUER, G., and HARRIS, G.W., (1964) - The effect of intra-pituitary infusion of median emminence and other brain extracts on anterior pituitary gonadotrophic secretion.
J. Physiol., 170, 474-486.

- CESSION, G., CESSION-FOSSION, A., LIBET, R., (1966) - Action de la progestérone sur trois agents endogènes à action hypertensive.
Compt. Rend. Soc. Biol., 159, 1864-1866.

- CHATELIER, G., BUSER, P., (1961) - Atlas stéréotaxique du Lapin de race "Fauve de Bourgogne".
Electroenceph. Clin. Neurophysiol. B., 951-953.

- CHRIST, J.F., (1969) - Derivation and boundaries of the hypothalamus, with atlas of hypothalamic grisea.
In The Hypothalamus, W. HAYMAKER, E., ANDERSON, W.J.H. NAUTA, Eds, Springfield, Illinois, 13-60.

- CHRISTIAN, D.C., (1956) - Studies on the neuroendocrine control of ovulation in the Rabbit.
Ph. D. Diss., Duke University.

- CLATTENBURG, R.E., SINGH, R.P., and MONTEMURO, D.G., (1971) - Ultra-structural changes in the preoptic nucleus of the rabbit following coïtus.
Neuroendocrinology, 8, 289-306.

- CLATTENBURG, R.E., SINGH, R.P., and MONTEMURO, D.G., (1971) - Post coïtal ultra-structural changes in neurons of the supra-chiasmatic nucleus of the Rabbit.
Z. Zellforsch. Mikrosk. Anat., 126, 448-459.

- CLEMENS, J.A., SHAAR, C.J., KLEBER, J.W., TANDY, W.A., (1971) - Areas of the brain stimulatory to LH and FSH secretion.
Endocrinology, 88, 180-184.

- CLEMENTI, F., CECCARELLI, B., CERATI, E., DEMONTE,M.L., FELICI, M., MOTTA, M., PECILE, A.,(1970) - Subcellular localization of neurotransmitters and releasing factors in the Rat median eminence.
J. Endocr., 48, 205-213.

- COLVIN, G.B., WHITMOYER, D.I., LISK, R.D., WALTER, D.O., SAWYER, C.H., (1968) - Changes in sleep wakefulness in female Rat during circadian and estrous cycles.
Brain Res., 7, 173-181.

- COLVIN, G.B., WHITMOYER, D.I., SAWYER, C.H. , (1969) - Circadian sleep-wakefulness patterns in rats after ovariectomy and treatment with estrogen.
Exptl. Neurol., 25, 616-625.

- CORBIN, A., (1966) - Pituitary and Plasma LH of ovariectomized Rats with median eminence implants of LH.
Endocrinology, 78, 893-896.

- CORBIN, A., COHEN, A.I., (1966) - Effect of median eminence implants of LH on pituitary LH of female Rats.
Endocrinology, 78, 41-46.

- CORBIN, A., STORY, J.C., (1967) - "Internal" feed-back mechanism : response of pituitary FSH and of stalk médian eminence follicle stimulating hormone releasing factor to median eminence implants of FSH.
Endocrinology, 80, 1006-1011.

- CORBIN, A., DANIELS, E.L., MILMORE, J.E., (1970) - An "internal" feed-back mechanism controlling follicle stimulating hormone releasing factor.
Endocrinology, 86, 735-743.

- COTTINET, D., (1969) - Les techniques de l'hypophysectomie chez les mammifères et son retentissement sur l'appareil génital et les glandes endocrines.
Thèse de Mèdecine, Lyon.

- COURRIER, R., GUILLEMIN, R., JUTISZ, M., SAKIZ, E., et ASCHHEIM, P., (1961) - Présence dans un extrait d'hypothalamus d'une substance qui stimule la sécrétion de l'hormone antéhypophysaire de lutéinisation LH.
Compt. Rend. Acad. Sci.,(Paris), 253, 922-927.

- CRIGHTON, D.B., SCHNEIDER, H.P.G., and Mc CANN, S.M., (1970) - Localization of LH releasing factor in the hypothalamus and neurohypophysis as determined by an in vitro method.
Endocrinology, 87, 323-329.

- CRITCHLOW, B.V., (1958) - Blockade of ovulation in the rat by mesencéphalic lesions.
Endocrinology, 63, 596-610.

- CROSS, B.A., (1954) - Milk ejection resulting from mechanical stimulation of mammary myoepithelium in the rabbit.
Nature, 173, 450-451.

- CROSS, B.A., GREEN, J.D., (1959) - Activity of single neurones in the hypothalamus : effect of osmotic and other stimuli.
J. Physiol., (London), 148, 554-569.

- CROSS, B.A., and SILVER, I.A. , (1966) - Electrophysiological studies on the hypothalamus.
Brit. Med. Bull., 22, 254-260.

- CURRIE, G.N., BLACK, D.L., ARMSTRONG , D.T., GREEF R.O., (1969) - Blockage ovulation in the Rabbit with catecholamines and sympathomimetics.
Proc. Soc. Exp. Biol. Med., 130, 598-609.

- DAFNY, N., BENTAL, E., FELDMAN, S., (1965) - Effect of sensory stimuli on single unit activity in the posterior hypothalamus.
Electroenceph. Clin. Neurophysiol., 19, 256-263.

- DAFNY, N., PERITZ, E., FISCHLER, B., FELDMAN, S., (1970) - Patterns of firing and factors determining responsiveness of units in the ventromedial hypothalamus in cats following sensory stimuli.
Arch. int. Physiol. Biochem., 78, 869-882.

- DAVIDSON, J.M., and SAWYER, C.H. (1961) - Effects of localized intracerebral implantation of oestrogen on reproductive function in the female Rabbit.
Acta Endocr. (Kbn), 37, 385-393.

- DAVID, M.A., FRASCHINI, F., MARTINI, L., (1966) - Control of LH secretion : role of a short feed-back mechanism.
Endocrinology, 78, 55-60.

- DAVIDSON, J.M., (1969) - Feed-back control of gonadotropin secretion.
In Frontiers in Neuroendocrinology, W.F. GANONG and L. MARTINI (Eds) Oxford University Press, p 345-3[illegible]

- DAVIDSON, J.M., WEICK, R.F., SMITH, E.R., DOMINGUEZ, R., (1970) - Feed-back mechanisms in relations to ovulation.
Federation proceedings, 29, 1900-1906.

- DEBELJUK, L., ARIMURA, A., SCHALLY, A.V., (1972) - Effect of estradiol and progesterone on the LH release induced by LH releasing hormone LH - RH in intact diestrous Rats and anestrous ewes.
Proc. Soc. Exp. Biol. Med., 139, 774-777.

- DESJARDINS, C., KIRTON, M.T., HAFS, H.D., (1967) - Anterior pituitary levels of FSH, LH, ACTH and prolactin after mating in the female Rabbits.
Proc. Soc. Exp. Biol. Med., 126, 23-26.

- DOMANSKI, E., PRZEKOP, F., (1968) - Hypothalamic centres in sleep associated with the control of gonadotrophic hormone secretion by pituitary gland.
Endokr., Pol., 19, 3-302.

- DONOVAN, B.T. and HARRIS, G.W., (1956) - Adrenergic agents and the release of gonadotrophic hormone in the Rabbit.
J. Physiol., (London), 132, 577-585.

- DORNER, G., DOCKE, F., (1967) - The influence of intrahypothalamic and intrahypophyseal implantation of estrogen or progesterone on gonadotropin release.
Endocr. Exp., 2, 65-72.

- DUFFY, P.E., and MENEFEE, M., (1965) - Electron microscopic observations of neurosecretory granules, nerve and glial fibers and blood vessels in the median eminence of the Rabbit.
Am. J. Anat., 117, 251-286.

- DUFY, B., (1965) - Construction d'un amplificateur de puissance à transistors délivrant des impulsions modulées en largeur. - Etude d'un prototype original utilisant un montage du type bistable.
Thèse d'Electronique, n° 294, Faculté des Sciences, Bordeaux.

- DUFY-BARBE, L., HENDRICK, J.C., FAURE, J.M.A., et FRANCHIMONT, P., (1972) - Influence de l'accouplement sur le taux plasmatique des gonadotrophines FSH et LH chez le Lapin femelle.
Communication présentée à l'Association des Physiologistes de Langue Française, Besançon, septembre 1972.

- DUTY-BARBE, L., MENDRICK, J.C., FONTAINONT, P., et FAURE, J.P.A. - Dosage radioimmunologique par immuno-adsorbant des gonadotrophines FSH et LH de Lapin : Applications physiologiques.
Ann. Endocrinol., (sous presse).

- DYBALL, R.E.J., (1969) - The time relation between the secretory and electrical response of supra-optic neurons to osmotic stimuli.
J. Physiol., (London), 203, 267-268.

- DYBAL, R.E.J., (1970) - Electrical descharge patterns in hypothalamic neurosecretory neurons associated with hormone release.
In Proc. Fifth Symposium on neurosecretion. W. BARGMANN, B., SCHARRER, (Eds), SPRINGER, (Berlin), 153-158.

- EATON, L.W., and HILLIARD, J., (1971) - Estradiol-17β Progestérone and 20α - hydroxy-pregnen-4-en-3-one in Rabbit ovarian venous plasma. I Steroïd secretion from paired ovaries with and without corpora lutea, effect of LH.
Endocrinology, 89, 105-111.

- ENDRÖCZI, E., HILLIARD, J., (1965) - Luteinizing hormone releasing activity in different parts of Rabbit and dog brain.
Endocrinology, 77, 667-673.

- EVERETT, J.W., SAWYER, C.H., and MARKEE, J.E. ,(1949)- A neurogenic timing factor in control of the ovulator discharge of luteinizing hormone in the cyclic Rat.
Endocrinology, 44, 234-250.

- EVERETT, J.W., (1961) - The mammalian female reproductive cycle and its controlling mechanisms.
In Sex and Internal secretion, W.C. YOUND, Ed.), Williams and Wilkins Co, Baltimore, p 497-555.

- EVERETT, J.W., (1965) - Ovulation in rats : preoptic stimulation through platinium electrodes.Importance of duration and spread of stimulus.
Endocrinology, 76, 1195-2001.

- EVERETT, J.W., (1969) - Neuroendocrine aspect of mammalian reproduction.
Ann. Rev. Physiol., 31, 383-416.

- FALCK, B., HILLARP , N.A., THIEME, G., THORPE, A., (1962) - Fluorescence of catecholamines and related compounds condensed with formaldehyde.
J. Histochem. Cytochem., 10, 348-354.

- FARQUHAR, M.G., and RINEHART, J.F., (1954) - Electron microscopic studies of the anterior pituitary gland of castrate Rats.
Endocrinology, 54, 516-541.

- FARREL, G., POWERS, D., and OTANI, T., (1968) - Inhibition of ovulation in the Rabbit : seasonal variation and the effects of indoles.
Endocrinology, 83, 599-603.

- FALCK, B. , OWMAN, C.H., (1968) - 5 Hydroxytriptamin and related amines in endocrine cell system.
Acta Pharmacol., 6 , 211-231.

- FAURE, J.M.A., (1956) - Modifications de l'activité bio-électrique du Rhinencéphale et modifications du comportement sous l'influence des gonado-stimulines hypophysaires chez la Lapine.
Revue Neurologique, 95, 490-497.

- FAURE, J.M.A., (1957) - Participation du rhinencéphale à la régulation hormonale.
Revue de Pathologie Générale et de Physiologie Clinique, n° 690, p 1029 à 1053, 691 , p 1263 à 1283, 692 , p 1445 à 1463.

- FAURE, J.M.A. et BENSCH, Cl., (1962) - Mésencéphale et "post-réaction E.E.G." dans le comportement lié à la vie endocrino-génitale du Lapin.
Revue Neurologique, 106, 117-201.

- FAURE, J.M.A., (1964) - Hormones in relation to sleep wakefulness mechanisms. Proceedings of the second international Congress of endocrinology, London, 1964, Excerpta Medica, Int. Congr. Ser., 83, (1965), 606-611.

- FAURE, J.M.A., VINCENT, J.D., BENSCH, Cl., FAVAREL-GARRIGUES, B., et DUFY, B., (1967) - Activités élémentaires dans l'hypothalamus au cours de l'ovulation chez la Lapine chronique.
J. Physiol., (Paris), 59, 405.

- FAURE, J.M.A., (1968 a) - Etats de veille et de sommeil dans la régulation neuro-endocrinienne.
Actualités Neuro-physiologiques, 8ème série, 251-292.

- FAURE, J.M.A., (1968b)- Rôle du système nerveux central extra-hypothalamique dans la physiologie ovarienne : perspectives physiopathologiques.
Actualités endocrinologiques. Journées de la PITIE, 1968, p 20-32.

- FAURE, J.M.A., VINCENT, J.D., DUFY, B., BENSCH, Cl., et FAVAREL-GARRIGUES, B., (1968) - Activités unitaires dans l'hypothalamus étudiées en rapport avec l'ovulation chez le Lapin chronique libre.
J. Physiol., (Paris), 60, 439-440.

- FAURE, J.M.A., VINCENT, J.D., et BENSCH, Cl., (1968) - Interdépendances entre le niveau de vigilance et les fonctions gonadotropes chez le Lapin femelle.
Rev. Eur. Endocr., 5, 25-26.

- FAURE, J.M.A., VINCENT, J.D., DUFY, B., BENSCH, Cl., (1969) - Influence des hormones périphériques sur les activités unitaires neuroniques de l'hypothalamus.
Rapport du Colloque National de Neuro-endocrinologie du C.N.R.S., Paris, 24-27 sept. 1969.

- FAURE, J.M.A., BENSCH, Cl., and VINCENT, J.D., (1971) - Influence de la lumière sur le comportement et sur la fonction ovarienne chez le Lapin.
Journal of Neuro-visceral relations, Su lt. X,187-203.

- FEE, A.R., and PARKES, A.S., (1929) - Studies on ovulation. I The relation of the anterior pituitary body to ovulation in the Rabbit.
J. Physiol., (London), 67, 383-388.

- FELDMAN, S., and DAFNY, N., (1968) - Modification of single cell responses in the posterior hypothalamus to sensory stimuli by caudate and globus pallidus stimulations and lesions.
Brain Research, 10, 402-417.

- FINDLAY, A.L.R., HAYWARD, J.N., (1969) - Spontaneous activity of single neurones in the hypothalamus of Rabbits during sleep and waking.
J. Physiol., (1969), 201, 237-258.

- FLAMENT-DURAND, J., (1964) - Morphologie et fonctions de transplants hypophysaires dans l'hypothalamus chez le Rat.
C.R. Acad. Sci., (Paris), 259, 4376-4378.

- FLAMENT-DURAND, J., (1965) - Observations on pituitary transplants into the hypothalamus of the Rat.
Endocrinology, 77, 446-454.

- FLAMENT-DURAND, J., DESCLIN, L., (1970) - The hypophysiotropic area. In The Hypothalamus, L. MARTINI, M. MOTTA, F. FRASCHINI, (Eds).
Academic Press, New-York, 245-257.

- FORBES, T.R., (1953) - Preovulatory progesterone in the peripheral blood of the Rabbit.
Endocrinology, 53, 79-87.

- FOSTER, C.L. - Relationship between ultrastructure and function in the adenohypophysis of the Rabbit. Memoirs of the society for endocrinology n° 19, in : Subcellular Organization and function in endocrine tissues, p 125-146, Cambridge University Press.

- FRIEDMAN, M.H., (1938) - Criteria for the selection of oestrous Rabbits.
Endocrinology, 22, 354-359.

- FRIEDMAN, M.H., and FRIEDMAN, G.S., (1939) - Seasonal variations on the gonadotropic hormone content of the Rabbit pituitary.
Endocrinology, 24, 626-630.

- FRITH, D.A., HOOPER, K.C., (1971) - The effect of coitus on the activity of certain enzymes on the female Rabbit hypothalamus.
Acta Endocr., 66, 213-220.

- FRITH, D.A., HOOPER, K.C., (1971) - The action of some ovulation inhibitors on the Rabbit hypothalamus.
Acta endocr., (Kbh), 66 , 221-228.

- FUCHS, A.R., and WICHMAN, K., (1971) - The uptake of 3 H - Progesterone and its metabolites by various brain areas of pregnant Rabbits.
Acta Endocr., (Kbh), 155, 22.

- FUXE, K., HÖKFELT, T., (1966) - Further evidence for the existence of tubero-infundibular dopamine neurons.
Acta Physiol.,Scand. 66, 245-246.

- FUXE, K., HÖKFELT, T.,NILSSON, O., (1967) - Activity changes in the tubero-infundibular dopamine neurons of the Rat during various states of the reproductive cycle
Life Sci., Oxford, 6, 2057-2061.

- FUXE, K., HÖKFELT, T.,NILSSON, O., (1969) - Castration, sex hormones, and tubero-infundibular dopamine neurons.
Neuroendocrinology, 5, 107-120.

- FUXE, K., HÖKFELT, T., JONSSON, G., (1970) - Participation of central monoaminergic neurons in the regulation of anterior pituitary release in Neurochemical aspects of hypothalamic function. L. MARTINI and J. MEITES,Eds, Academic Press, p 61-83.

- FUXE, K., HÖKFELT, T.,NILSSON, O., (1972) - Effect of constant light and androgen-sterilization of the amine turnover of the tubero-infundibular dopamine neurons: blockade of cyclic activity and induction of a persistent high dopamine turnover in the median eminence.
Acta Endocr., (Kbh), 69, 625-639.

- GANS, E.,(1959) - The FSH content of serum of intact and gonadectomized Rats and of Rats treated with sex hormones.
Acta Endocrin., Kbh, 32, 362-372.

- GANS, E., and VAN REES, G.P., (1962) - Effect of small doses of estradiol benzoate on pituitary production and release of ICSH in gonadectomized male and female Rats.
Acta Endocrin., Kbh, 39, 245-252.

- GAY, V.L., and SHETH, N.A., (1972) - Evidence for a periodic release of LH in castrated male and female Rats.
Endocrinology, 90, 158-162.

- GESCHWIND, I.I., (1969) - Mechanism of action of releasing factors.
In Frontiers in neuroendocrinology - W.F. GANONG and L. MARTINI, (Eds), Oxford University Press, 1969, p 389-431.

- GREEN, J.D., and HARRIS, G.W., (1947) - The neurovascular link between the neurohypophysis and adenohypophysis.
J. Endocrinol., 5, 136-146.

- GROSBY, E.C., SHOWERS, M.J.C., (1969) - Comparative anatomy of the preoptic and hypothalamic areas.
In The Hypothalamus, W. HAYMAKER, E. ANDERSON, W.J.H. NAUTA, (Eds), Springfield, Illinois, 61-135.

- HALASZ, B., PUPP, L., UHLARIK, S., (1962) - Hypophysiotrophic area in the hypothalamus.
J. Endocr., 25, 147-154.

- HALASZ, B., PUPP, L., UHLARIK, S., TIMA, L., (1965) - Further studies on the hormone secretion of the anterior pituitary transplanted into the hypophysiotrophic area of the Rat hypothalamus.
Endocrinology, 77, 343-355.

- HARDY, D.F., (1970) - The effect of constant light on the estrous cycle and behavior of the female Rat.
Physiology and Behavior, 5, 421-425.

- HARRIS, G.W., (1937) - Induction of ovulation in Rabbits by electrical stimulation of the hypothalamo-hypophysial mechanisms.
Proc. Roy. Soc., 13, 122-374.

- HAYWARD, J.N., HILLIARD, J., SAWYER, C.H., (1964) - Time of release of pituitary gonadotropin induced by electrical stimulation of the Rabbit brain. Endocrinology, 74, 108-113.

- HECHTER, O., SOIFIER, O., (1971) - Involvement of the adenyl cyclase 3'5' - AMP system in steroïd hormone action. Basic actions of sex steroïds on target organs. KARGER, Basel, (Eds), 93-111.

- HERLANT, M., (1963) - Apport de la microscopie électronique à l'étude du lobe antérieur de l'hypophyse. In Cytologie de l'adenohypophyse. J. BENOIT, C. DA LAGE, Eds, C.N.R.S., Paris, 1963, p 73-90.

- HILLIARD, J., ARCHIBALD, D., and SAWYER, C.H., (1963) - Gonadotropic activation of preovulatory synthesis and release of progestin in the Rabbit. Endocrinology, 72, 59-66.

- HILLIARD, J., PENNARDI, R., SAWYER, C.H., (1967) - A functional role for 20 - Hydroxy-pregnen-4-en-3-one in the Rabbit. Endocrinology, 80, 901-909.

- HILLIARD, J., SCHALLY, A.V., and SAWYER, C.H., (1971) - Progesterone blockade of the ovulatory response to intrapituitary infusion of LH-RH in Rabbits. Endocrinology, 88, 730-736.

- HÖKFELT, T., FUXE, K., (1972) - On the morphology and the neuroendocrine role of the hypothalamic catecholamine neurons. In Brain Endocrine Interaction. Medio-eminence, structure and function, KARGER, Basel.- K.M. KNIGGE, DE SCOTT, A. WEINDL, (Eds), 181-223.

- HYYPPA, M., MOTTA, M., and MARTINI, L., (1971) - "Ultrashort" feed-back control of follicle stimulating hormone releasing factor secretion. Neuroendocrinology, 1, 227-235.

- IGARASHI, M., and Mc CANN, S.M., (1964) - A hypothalamic follicle stimulating hormone-releasing factor.
Endocrinology, 74, 446-452.

- JANOWSKI, D.S., DAVIS, J.M., (1970) - Progesterone-estrogen effects on uptake and release of norepinephrine by synaptosomes.
Life Sci., 9, 525-531.

- JOUVET, M., (1967) - Mechanisms of the states of sleep : a neuropharmacological approach.
Assoc. Res. Nerv. Ment. Dis., 45, 86-126.

- JOUVET, M., (1967) - Neurophysiology of states of sleep.
In The Neurosciences. G.C. QUARTON, T. MELNECHUK, F.O. SCHMITT, (Eds) , - The Rockefeller University Press New-York , p 529-544.

- JUTISZ, M., BERAULT, A., de la LLOSA, M.P., (1967) - Studies in the mechanism of action of hypothalamic FSH and LH releasing factors.
Intern. Symp. on the Pharmac. of Hormonal Polypeptides and Proteins, Milano (Italia), september 14-16. In Pharmacology of Hormonal Polypeptides and proteins, p 138-147. Plenum Press, New-York, 1968.

- JUTISZ, M., (1969) - Données récentes sur le mode d'action des hormones hypothalamiques FRF et LRF (FSH- et LH - releasing factors).
Acta Neurol. Belg., 69, 491-500.

- JUTISZ, M., DE LA LLOSA, M.P., BERAULT, A., and KERDELHUE, B., (1970) - Concerning the mechanisms of action of hypothalamic releasing factors on the adenohypophysis.
In The Hypothalamus, L. MARTINI, M. MOTTA, F. FRASCHINI, Eds, Academic Press, p 293-311.

- KALRA, P.S., KALRA, S.P., KRULICH; L., FAWCETT, C.P., Mc CANN, S.M., (1972) - Involvement of norepinephrine in transmission of the stimulatory influence of progesterone on gonadotropin release.
Endocrinology, 90, 1168-1176.

- KAMBERI, I.A., KOBAYASHI, Y., (1970) - Monoamine oxidase activity in the hypothalamus and various other brain areas and in sex endocrine glands of the Rat during the estrous cycle.
J. Endochimistry, 17, 261-268.

- KAMBERI, I.A., MICAL, R.S., PORTER, J.C., (1970) - Effect of anterior pituitary perfusions and intraventricular injection of catecholamines and Indoleamines on LH release.
Endocrinology, 87, 1-12.

- KANEMATSU, S., and SAWYER, C.H., (1963) - Effects of hypothalamic and hypophysial estrogen implants on pituitary gonadotrophic cells in ovariectomized Rabbits.
Endocrinology, 73, 687-695.

- KANEMATSU, S., and SAWYER, C.H., (1964) - Effects of hypothalamic and hypophysial estrogen implants on pituitary and plasma LH in ovariectomized Rabbits.
Endocrinology, 75, 579-585.

- KANEMATSU, S., and SAWYER, C.H., (1965) - Blockade of ovulation in Rabbits by hypothalamic implants of norethindrone.
Endocrinology, 76, 691-699.

- KATO, J., and VILEE, C.A., (1967) - Preferential uptake of estradiol by the anterior hypothalamus of the Rat .
Endocrinology, 80, 567-575.

- KATO, J., (1970) - In vitro uptake of tritiated oestradiol by the anterior hypothalamus and hypophysis of the Rat.
Acta Endocr., (Kbh), 64, 687-695.

- KAWAKAMI, M., and SAWYER, C.H., (1959) - Induction of behavioral and electroencephalographic changes in the Rabbit by hormone administration or brain stimulation.
Endocrinology, 65, 631-643.

- KAWAKAMI, M., and SAWYER, C.H., (1959) - Neuroendocrine correlates of changes in brain activity thresholds by sex steroïds and pituitary hormones.
Endocrinology, 65, 652-668.

- KAWAKAMI, M., and SAITO, H., (1967) - Unit activity in the hypothalamus of the Cat : effect of genital stimuli, LH and oxytocin, 17, 466-486.

- KAWAKAMI, M., and SAWYER, C.H., (1967) - Effects of sex hormones and antifertility steroids on brain thresholds in the Rabbit.
Endocrinology, 80, 857-871.

- KAWAKAMI, M., TERASAWA, E., IBUKI, T., (1970) - Changes in multiple unit activity of the brain during the estrous cycle.
Neuroendocrinology, 6, 30-48.

- KAWAKAMI, M., and KUBO, K., (1971) - Neuro-correlate of limbic hypothalamo pituitary gonadal axis in the Rat : change in limbic hypothalamic unit activity induced by vaginal and electrical stimulation.
Neuroendocrinology, 7, 65-89.

- KELLER, P.J., LICHTENSTEIGER, W., (1971) - Stimulation of tubero-Infundibular dopamine neurones and gonadotrophin secretion.
J. Physiol., (London), 219, 385-401.

- KLEIN, M., (1947) - Oestrogen level and ovarian hypophysial relationship during pseudo pregancy and pregnancy in the Rabbit.
J. Endocr., 5, XXV.

- KLUVER, A., BARRERA, E., (1953) - A method for the combined staining of cells and fibres in the nervous system.
J. Neuropathol. Exper. Neurol., 12, 400-403.

- KOBAYASHI, T., KOBAYASHI, T., TAKEZAWA, S., OSHIMA, K., KAWAMINA, H., (1962) - Electrophysiological studies on the feed-back mechanism of progesterone.
Endocrinol., Japon, 9, 302-320.

- KOE, B.K., WEISSMAN, A., (1966) - p. Chlorophenylalanine : a specific depletor of brain serotonin.
J. Pharmac. Exp. Ther., 154, 499-516.

- KOELLA, W.R., FELDSTEIN, A., CZIEMAN, J.S., (1968) - The effects of parachlorophenylalanine on the sleep of Cats.
Electroenceph. Clin. Neurophysiol., 25, 481-490.

- KOMISARUCK, B.R., Mc DONALD, P.G., WHITMOYER, D.I., and SAWYER, C.H., (1967) - Effects of progesterone and sensory stimulation on EEG and neuronal activity in the Rat.
Experimental Neurology, 19, 494-507.

- KORDON, C., (1968) - Regulation hypothalamique de la fonction ovarienne.
Actualités endocrinologiques, Journées endocrinologiques de la PITIE, 7-17.

- KORDON, C., et JUTISZ, M., (1968) - Aspects physiologiques et biochimiques des mécanismes de régulation de la sécrétion gonadotrope hypophysaire.
Proceedings of the Sixth World Congress on Fertility and Sterility, Tel Aviv, 172-181.

- KORDON, C., (1971) - Involvement of catecholamines and Indolamines in the control of pituitary gonadotropin release.
Journal of Neuro-visceral relations, Suppl. X, 41-50.

- KORDON, C., GLOWINSKI, J., (1971) - Role of brain catecholamines in the control of anterior pituitary fonctions.
In Neurochemical Aspects of Hypothalamic Function, L. MARTINI, J. MEITES, (Eds), 85-100.

- KUHLENBECK, H., (1954) - The human diencephalon. A summary of development, structure fonction and pathology.
KARGER, Basel.

- KUROSUMA, K., ISHIDA, Y., BOWERS, C.Y., and SCHALLY, A.V., (1965) - Stimulation of release of follicle - stimulating hormone by hypothalamic extracts in vitro and in vivo.
Endocrinology, 76, 614-619.

- KUROSUMI, K., OOTA, Y., (1968) - Electron microscopy of two types of gonadotrophs in the anterior pituitary glands of persistent estrous and diestrous Rat.
Z. Zellforsch, 85, 34-46.

- LABORIT, H., (1972) - Généralités sur le mécanisme d'action métabolique des hormones.
Agressologie, 13, 147-160.

- LICHTENSTEIGER, W., (1971) - Effect of electrical stimulation of the fluorescence intensity of catecholamine containing tuberal nerve cells.
J. Physiol., (London), 218, 63-84.

- Mc C. BROOKS, C., ISHIKAWA, T., KOIZUMI, K. and LU, H.H., (1966) - Activity of neurones in the paraventricular nucleus of the hypothalamus and its control.
J. Physiol., (London), 182, 217-231.

- Mc CANN, S.M., TALEISNIK, S., and FRIEDMAN, H., (1960) - LH releasing activity in hypothalamic extracts.
Proc. Soc. Exp. Biol., 104, 432-434.

- Mc CANN, S.M., (1962) - Effect of progesterone on plasma luteinizing hormone activity.
Am. J. Physiol., 202, 601-604.

- Mc CANN, S.M., and RAMIREZ, D.V., (1964) - The neuroendocrine regulation of hypophyseal luteinizing hormone secretion.
Recent Progr. Hormone Res., 20, 131-181.

- Mc CANN, S.M., DHARIWAL, A.P.S., and PORTER, J.C.,(1968) Regulation of the adenohypophysis.
Ann. Rev. Physiol., 30, 589-640.

- Mc CANN, S.M., WAKABAYASHI, K., ASHWORTH, R., SCHNEIDER, H.P.G., KAMBERI, I., and CORTES, P., (1968) - Studies on the mechanism of action of hypothalamic pituitary stimulating and inhibiting hormones.
Excerpta Medica International Congress, serie n° 184, Progress in Endocrinology - Proceedings of the third International Congress of endocrinology, Mexico, 1968.

- Mc CANN, S.M., (1971) - Mechanism of action of hypothalamic-hypophyseal stimulating and inhibiting hormones.
In Frontiers in Neuroendocrinology, 1971, L. MARTINI and W.F. GANONG, Eds, Oxford University Press, p 209-235.

- Mc EWEN, B.S., ZIGMOND, R.E., AZMITIA, E.C., WEISS, J.M. (1970) - Steroid hormone interaction with specific brain regions.
Biochemistry of Brain and Behavior.
Ed. R.E. BOWMAN and S.P. DATTA, Plenum Press, p 123-167.

- Mc LAREN, A., (1966) - Regulation of ovulation rate after removal of one ovary in mice.
Proc. Roy. Soc., (Biol.), 166, 316-340.

- MAKARA, G.B., HARRIS, M.C., SPYER, K.M., (1972) - Identification and distribution of tubero-infundibular neurons.
Brain Research, 40, 283-290.

- MARKEE, J.E., SAWYER, C.H., and HOLLINSHEAD, W.H., (1948) Adrenergic control of the release of luteinizing hormone from the hypophysis of the Rabbit.
Recent Progr. Hormone Res. 2, 117-131.

- MARTINI, L., FRASCHINI, F., MESS, B., MOTTA, M., (1967) L'hypothalamus et les structures extra-hypothalamiques qui contrôlent l'hypophyse antérieure.
Pathologie-Biologie, 15, 186-188.

- MARTINI, L., (1969) - Action of hormones on the central nervous system.
General Comp. Endocrinol., Suppl. 2, 214-226.

- MAZZUCA, M., (1965) - Structure fine de l'éminence médiane du Cobaye.
J. Microscop., 4, 225-238.

- MEANS, A.R., and HAMILTON, T.H., (1966) - Early estrogen action : concomitant stimulation within two minutes of nuclear RNA synthesis and uptake of RNA precursor by the uterus.
Proc. Natl. Acad. Sci., U.S., 56, 1594-1598.

- MEANS, A.R., and HAMILTON, T.H., (1966) - Evidence for depression of nuclear protein synthesis and concomitant stimulation of nuclear RNA synthesis during early estrogenaction.
Proc. Natl. Acad. Sci., U.S., 56, 686-693.

- MEHLER, W.R., FEFERMAN, M.E., and NAUTA, W.J.H., (1960) - Ascending axon degeneration following antero-lateral cordotomy an experimental study in the monkey.
Brain, 83, 718-750.

- MESS, B., ZANISI, M., TIMA; L., (1970) - Site of production of releasing and inhibiting factors.In the hypothalamus, L. MARTINI, M. MOTTA, and F. FRASCHINI, Eds , p 259-276.

- MICHAEL, R.P., (1965) - Oestrogens in the central nervous system.
Brit. Med. Bull., 21, 87-90.

- MITTLER, J.C., and MEITES, J., (1964) - In vitro stimulation of pituitary follicle stimulating-hormone release by hypothalamic extract.
Proc. Soc. Exptl. Biol. Med., 117, 309-313.

- MOREST, D.K., (1961) - Connexions of the dorsal tegmental nucleus in Rat and Rabbit.
J. Anat., 95, 229-246.

- MOTTA, M., (1969) - The brain and the physiological interplay of long and short feed-back system.
In Progress in Endocrinology : Proceedings of the third international congress of endocrinology, Mexico (1968), Excerpta Medica Foundation Carlos GUAL, (Edit.),523-531.

- MOTTA, M., PIVA, F., MARTINI, L., (1970) - The hypothalamus as the center of endocrine feed-back mechanisms .
In The Hypothalamus, L. MARTINI, M; MOTTA, F. FRASCHINI, (Eds),Academic Press, 463-489.

- MOTTA, M., PIVA, F., MARTINI, L., (1970) - The Hypothalamus as the center of endocrine feed-back mechanisms.
In The Hypothalamus, L. MARTINI, M. MOTTA, F. FRASCHINI, (Eds), Academic Press, p 463-469.

- MOTTA, M., PIVA, F., TIMA, L., ZANISI, M., MARTINI,L., (1970) - Feed-back mechanisms and the control of the secretion of hypothalamic releasing factors.
In Hormones and the environment - Cambridge University Press.

- MOWLES, T.F., ASHKANAZY, B., MIX, E., and SHEPPARD, H., (1969 1)- Hypothalamic and hypophyseal estradiol-binding complexes.
Endocrinology, 89, 484-491.

- NAKANE, P.K., (1970) - Classification of anterior pituitary cell types with immunoenzyme histochemistry.
J. Histochem. Cytochem., 18, 9-20.

- NALLAR, R., Mc CANN, S.M., (1965) - Luteinizing hormone releasing activity in plasma of hypophysectomizdd Rats.
Endocrinology, 76, 272-275.

- NAREBSKI, J., TYMICZ, J., LEWOSZ, W., (1969) - The circadian sleep of Rabbits.
Acta Biol. Exp. 29, 185-200.

- NAUTA, W.J.H., and HAYMAKER, W., (1969) - Hypothalamic nuclei and fiber connections.
In The Hypothalamus, W. HAYMAKER, E. ANDERSON, W.J.H., NAUTA,(Eds), p 136-209.

- NOTIDES, A., GORSKI, J., (1966) - Estrogen induced synthesis of a specific uterine proteine.
Proc. Natl. Acad. Sci., (U.S.), 56, 230-235.

- PARKES, A.S. and BRUCE, H?M., (1961) - Olfactory stimuli in mammalian reproduction.
Science, 134, 1049.

- PAESI, F.J.A., and de JONGH, S.E., (1954) - The interstial cell stimulating hormone content of the hypophysis in intact and gonadectomized Rats as measured by the weight increase of the prostate of hypophysectomized recipients.
Acta Endocrin.,(Kbh), 15, 1.

- PAESI, F.J.A., de JONGH, S.E., HOOGSTRA, M.J. and ENGELBREGT, A. (1955) - The follicle stimulating hormone content of the hypophysis of the Rat as influenced by gonadectomy and estrogen treatment.
Acta Endocrin. (Kbh), 19, 49.

- PALKA, Y.S., RAMIREZ , V.D., SAWYER, C.H., (1966) - Ditribution and biological effects of tritiated estradiol implanted in the hypothalamo-hypophysial region of female Rats.
Endocrinol., 78; 487-499.

- PFAFF, D.W., (1968) - Uptak of 3 H estradiol by the female Rat brain : an autoradiographic study.
Endocrinology, 82, 1149-1155.

- PLACSEK, B.E., SCHNEIDER, T.C., and GAY , V.L.,(1971)- Sequential study of LH and progestin secretion on the afternoon of proestrus in the Rat.
Endocrinology, 89; 39-45.

- PRZEKOP, F., DOMANSKI, E., (1970) - Induction of ovulation in sleep by electric stimulation of hypothalamic regions.
J. Endocr., 46, 305-311.

- RAMIREZ, D.V., Mc CANN, S.M., (1963) - Comparison of the regulation of LH secretion in immature and adult Rats.
Endocrinology, 72; 452-464.

- RAMIREZ, V.D., KORNISARUK, B.R., WHITMOYER, D.I., and SAWYER, C.H. , (1967)- Effects of hormones and vaginal stimulation on the EEG and hypothalamic units in Rats.
Ann. J. Physiol., 212; 1376-1384.

- RAISMAN, G., (1972) - A second look at the parvicellular neurosecretory system.
Brain endocrine interaction. Median Eminence : Structure and Fonction, p 109-118, KARGER, Basel.

- RENNELS, E.G., (1963) - Gonadotrophic cells of Rat hypophysis.
In Cytologie de l'Adénohypophyse, J. BENOIT, C. DA LAGE, Eds, C.N.R.S., Paris, 201-214.

- RENNIE, P., DAVIES, J., FRIEDRICH, E., (1964) - A simple infrahyoid parapharyngeal method of hypophysectomy in the Rabbit.
Anat. Rec., 150, 89-94.

- RETHELYI, M., HALASZ, B., (1970) - Origin of the nerve endings in the surface zone of the median eminence of the Rat hypothalamus.
Exp. Brain Res., 11, 145-158.

- REYNOLDS, S.R.R., (1929) - Studies on the uterus. I A method for recording uterine activity in chronic experiments on unanaesthetized animals.
Amer. J. Physiol., 92, 420.

- ROTH, R.H., STJÄRNE, L., and VON EULER, U.S., (1966) - Acceleration of noradrenaline biosynthesis by nerve stimulation.
Life Sci.,(Oxford) 5, 1071-1075.

- RUBINSTEIN, L., SAWYER, C.H.,(1970) - Role of catecholamines in stimulating the release of pituitary ovulating hormone in Rats.
Endocrinology, 86, 988-995.

- SALAZAR, H., (1963) - The pars distalis of the females Rabbit hypophysis an electron microscopic study. Anat. Rec., 147, 469-497.

- SCARAMUZZI, R.J., BLAKE, C.A., PAPKOFF, H., HILLIARD, J., and SAWYER, C.H. (1972) - Radio-immunoassay of Rabbit LH serum levels during various reproductive states. Endocrinology, 90, 1285-1291.

- SAWYER, C.H., MARKEE, J.E., and TOWSEND, B.F., (1949) - Cholinergic and adrenergic components in the neurohumoral control of the release of LH in the Rabbit. Endocrinology, 44, 18-37.

- SAWYER, C.H., (1952) - Stimulation of ovulation in the Rabbit by the intra-ventricular injection of epinephrine or norepinephrine. Anat. Rec., 112, 385.

- SAWYER, C.H., EVERETT, J.H., GREEN, J.D., (1954) - The Rabbit diencephalon in stereotaxic coordinates. J. Comp. Neurol., 101,801-824.

- SAWYER, C.H., CRITCHLOW, B.U., and BARRACLOUGH, C.A., (1955) - Mechanism of blockade of pituitary activation in the Rat by morphine, atrophine and barbiturates. Endocrinology, 57, 345-354.

- SAWYER, C.H., (1959) - Effects of brain lesions on estrous behavior and reflexogenous ovulation in the Rabbit. J. of Experimental Zoology, 142, 227-246.

- SAWYER, C.H., (1959) - Seasonal variation in the incidence of spontaneous ovulation in Rabbits following estrogen treatment. Endocrinology, 65, 523-525.

- SAWYER, C.H., and EVERETT, J.W., (1959) - Stimulatory and inhibitory effects of progesterone on the release of pituitary ovulating hormone in the Rabbit. Endocrinology, 65, 644-651.

- SAWYER, C.H., and KAWAKAMI, I., (1959) - Characteristics of behavioral and electroencephalographic after reactions to copulation and vaginal stimulation in the female Rabbit. Endocrinology, 65, 622-630.

- SAWYER, C.H., and MARKEE, J.E., (1959) - Estrogen facilitation of release of pituitary ovulating hormone in the Rabbit in response to vaginal stimulation. Endocrinology, 65, 614-621.

- SAWYER, C.H., (1960) - Contrôle nerveux de l'axe hypophyso-gonadique. J. Mèd. Bordeaux, 137, 5-38.

- SAWYER, C.H., (1966) - Effects of hormonal steroïds on certain mechanisms in the adult brain. In L. MARTINI, F. FRASCHINI and M. MOTTA (Eds), Proc. 2nd Int. Congr. Hormonal Steroids, Excerpta Medica, Int. Congr. Ser. N° 132, 123-135.

- SAWYER, C.H., (1967) - Some endocrine aspects of fore brain inhibition. Brain Research, 6, 48-59.

- SCHALLY, A.V., BOWERS, C.Y., CARTER, W.H., ARIMURA, A., REDDING, T.W., SAITO, M., (1969) - Effect of actinomycin-D on the inhibitory response of estrogens on LH release Endocrinology, 85, 290-299.

- SCHNEIDER, H.P.G., CRIGHTON, D.B., and Mc CANN, S.M., (1969) - Suprachiasmatic LH releasing factor. Neuroendocrinology, 5, 271-280.

- SCHNEIDER, H.P.G., Mc CANN, S.M., (1970) - Estradiol and the neuroendocrine control of LH release in vitro. Endocrinology, 87, 330-338.

- SCHNEIDER, H.P.G., Mc CANN, S.M., (1970) - Mono- and Indolamines and control of LH secretion. Endocrinology, 86, 1127-1133.

- SEIKI, K., and HATTORI, K., (1971) - A more extensive study on the uptake of labelled progesterone by the hypothalamus and pituitary glands of Rats.
J. Endocr., 51, 793-794.

- SHIINO, M., ARIMURA, A., SCHALLY, A.V., and RENNELS, E.G., (1972) - Ultrastructural observation of granule extrusion from Rat anterior pituitary cells after injection of LH-RH.
Z. Zellforsch, 128, 152-161.

- SOULAIRAC, A., et SOULAIRAC, M.L., (1969) - Intégration nerveuse et fonctions endocrines.
Acta Neurol. Bel., 69, 539-565.

- SPIES, H.G., STEVENS, K.R., HILLIARD, J., SAWYER, C.H., (1969) - The pituitary as a site of progesterone and chlormadinone blockade of ovulation in the Rabbit.
Endocrinology, 84, 277-284.

- SPIES, H.G., WHITMOYER, D.I., SAWYER, C.H., (1970) - Patterns of spontaneous and induced paradoxical sleep in intact and hypophysectomized Rabbits.
Brain Research, 18, 155-164.

- STUART, D.G., PORTER, R.W., ADEY, W.R., KANIKAWA, Y., (1964) - Hypothalamic unit activity I visceral and somatic influences.
Electroenceph. Clin. Neurophysiol., 16, 237-247.

- STUMPF, W.E., (1970) - Estrogen neurons and estrogen neuron systems in the periventricular brain.
Amer. J. Anat., 129, 207-218.

- STUMPF, W.E., (1971) - Hypophysiotropic neurons in the periventricular brain : topography of estradiol concentrating neurons.
In steroids hormones and brain fonction. C.H. SAWYER, (Ed), U.C.L.A., Press, 215-226.

- SZENTAGOTHAI, J. FLERKO, B., MESS, B., HALASZ, B.,(1968)- In Hypothalamic Control of the Anterior Pituitary
Akademiai kiado Budapest, 1968, p 61.

- TALWAR, G.P., and SEGAL, S.J., (1963) - Prevention of hormone action by local application of actinomycin-D. Proc. Natl. Acad. Sci., U.S., 50, 226-230.

- TALWAR, G.P., (1969) - Mechanism of action of estrogens. Gén. Comp. Endocrinol., Suppl. 2, 123-134.

- UEMURA, H., and KOBAYASHI, H., (1971) - Effects of Dopamine implanted in the Median Eminence on the estrous cycle of the Rat.
Endocrinol., Japon, 18, 91-100.

- UI, H., MUELLER, G.C., (1963) - The role of RNA synthesis in early estrogen action.
Proc. Natl. Acad. Sci., (U.S.), 50, 256-260.

- VAN REES, G.P., (1964) - Interplay between steroid sex hormones and secretion of FSH and ICSH.
In Major Problems in Neuroendocrinology, G. BAJUSZ, G. JASMIN, (Eds), S. KARGER, Basel, 322-345.

- VELASCO, M.E., and TALEISNIK, S., (1969) - Effect of hippocampal stimulation in the release of gonadotropin.
Endocrinology, 85, 1154-1159.

- VINCENT, J.D., DUFY, B., FAURE, J.M.A., (1970) - Effects of vaginal stimulation on hypothalamic single units in unanesthetized Rabbits.
Experientia, 26, 1266-1267.

- WADE, G.N., and FEDER, H.H., (1972) - (1,2 3 H) Progesterone uptak by guinea pig brain and uterus ; differential localization, time course of uptake and metabolism and effects of age, sex, estrogen, priming and competing steroids.
Brain Research, 45, 525-543.

- WATANABE, S., and MC CANN, S.M., (1968) - Localization of FSH releasing factor in the hypothalamus and neurohypophysis as determined by in vitro assay.
Endocrinology, 82; 674-684.

- WEINER, R.I., BLAKE, C.., RUBINSTEIN, L., and SAWYER, C.H., (1971) - Electrical activity of the hypothalamus effects of intra-ventricular catecholamine.
Science, 171, 411-412.

- WHALEN, R.E., and LUTTGE, N.G., (1972) - Differential localization of progesterone uptake in brain. Role of sex, estrogen pretreatment and adrenalectomy.
Brain Research, 33, 147-155.

- WOLBARSHT, M.L., Mc NICHOL, E.F., and WAGNER, H.,(1960) - Glass insulated platinum micro-electrode.
Science, 132, 1309-1310.

- WURTMAN, R.J., (1967) - Effects of light and visual stimuli in endocrine function.
In Neuroendocrinology, L. MARTINI and W.F. GANONG, (Eds), Academic Press, New-York, vol. 2, 19-59.

- YANG, B..., FOSTER, C.L., and CAMERON, E., (1965) - Some observations on the ultrastructure of the adeno-hypophysis of the Rabbit.
J. Endocrin., 31, 279-287.

- YOKOYAMA, A., (1956) - Milk ejection responses following administration of "tap" stimuli and posterior pituitary extracts.
Endocrinol., Japon, 3, 32-38.

- ZARROW, M.X., and CLARK, J.H., (1968) - Ovulation following vaginal stimulation in a spontaneous ovulator and its implications.
J. Endocri., 40, 343-352.

- ZIGMOND, R.E., and Mc EWEN, B.S., (1970) - Selective retention of oestradiol by cell nuclei in specific brain region of the ovariectomized Rat.
J. of Neurochem., 17, 889-899.

- ZONDEK, B. and SKLOW, (1941) - Cité par SAWYER, C.H. (1959).
Endocrinology, 65, 523-525.

BIBLIOGRAPHIE ADDENDA

- CLEMENS, J.A., GALLO, R.V., WHITMOYER, D.I., and SAWYER, C.H., (1971) - Prolactin responsive neurons in the rabbit hypothalamus.
Brain Research, 25, 371-379.

- DYER, R.G. (1969) - Does oxytocin influence the activity of hypothalamic neurons.
J. Physiol. (London), 203, 70-71.

- CROSS, B.A., and DYER, R.G. (1970). - Characterization of unit activity in hypothalamic islands with special reference to hormone effects In the Hypothalamus : MARTINI, MOTTA, M., FRASCHINI, F., Eds, Academic Press New-York, p 115-122.

- DYER, R.G., PRITCHETT, C.J., and CROSS, B...., (1972) - Unit activity in the diencephalon of female rats during the oestrous cycle.
J. Endocr., 53, 151-160.

- ERICSON, L...., (1970). - Subcellular localization of 6 Hydroxy tryptamine in the parafollicular cells of the mouse thyroid gland.
J. Ultrastruct. Res., 31, 162-177.

- RICHARD, Ph., (1970). - An electrophysiological study in the ewe of the tracts which transmit impulses from the mammary glands to the pituitary stalk.
J. Endocr., 47, 37-44.

- RICHARD, Ph., URBAN, I., and DENAMUR, R. (1970) - The rôle of the dorsal tracts of the spinal cord and of the mesencéphalic and thalamic lemniscal system in the milk-ejection reflex during milking in the ewe.
J. Endocr., 47, 45-53.

- RICHARD, Ph., (1972) - The reticulo-hypothalamic pathway controlling the release of oxytocin in the ewe.
J. Endocr., 53, 71-83.

- RUF, K. , et STEINER, F.A.,(1967) - Steroïd-sensitive simgle neurons in rat hypothalamus and midbrain : identification by microelectrophoresis.
Science, 156, 667-669.

- SAWYER, C.H., KAWAKAMI, M., MEYERSEN, B., WHITMOYER,D.I., and LILLEY, J.J. (1969) - Effects of ACTH dexamethasone and asphyxia in electrical activity of the rat hypothalamus.
Brain Research, 10, 213-226.

- SLUSHER, M.A., HYDE, J.E., et LAUFER, M., (1966) - Effect of intracerebral hydrocortisone on unit activity of diencephalon and midbrain in cats.
J. Neurophysiol., 29, 157-169.

- VAN DELFT, A.M.L., and KITAY, J.I., (1972) - Effect of ACTH on single unit activity in the diencephalon of intact and hypophysectomised rats.
Neuroendocrinology, 9, 188-196.

- YAGI, K., (1973) - Changes in firing rates of single preoptic and hypothalamic units following an intravenous administration of estrogen in the castrated female rat.
Brain Research, 53, 342-352.